

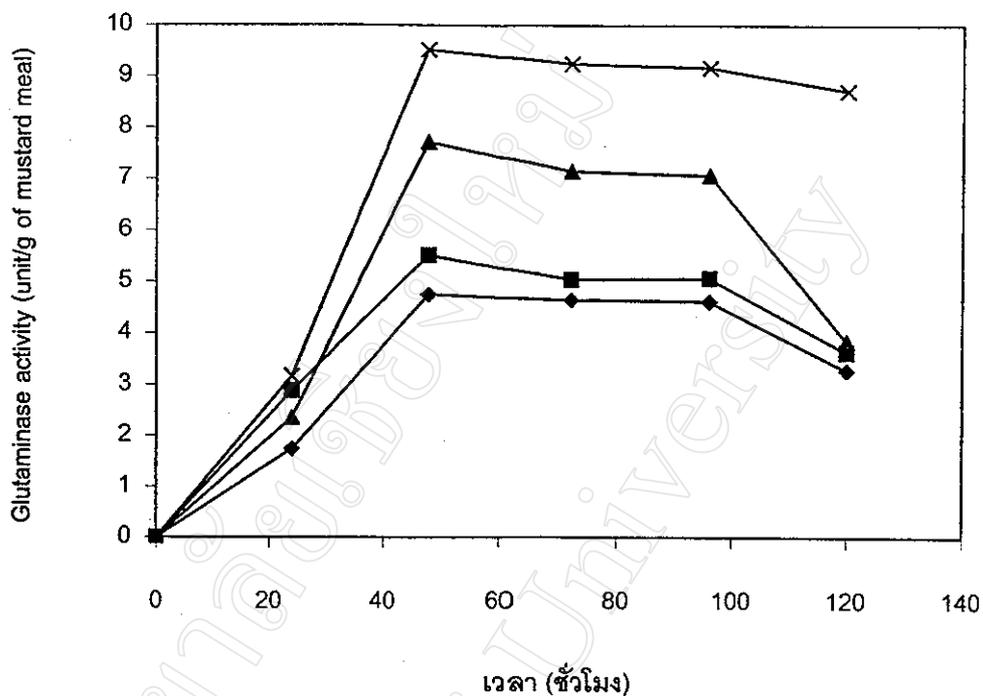
บทที่ 3

ผลการทดลอง

3.1 การศึกษาการเจริญและการผลิตเอนไซม์ของเชื้อ *Aspergillus* สายพันธุ์ต่างๆ บนอาหารแข็งของกากมันส์ตาร์ด

การศึกษาการเจริญและการผลิตเอนไซม์ของเชื้อ *Aspergillus* สายพันธุ์ต่างๆ ในการเลี้ยงบนกากมันส์ตาร์ดในสภาพอาหารแข็ง เป็นการทดลองเพื่อคัดเลือกเชื้อที่เจริญบนกากมันส์ตาร์ดได้ดี โดยวัดจากปริมาณกลูโคซามินที่ได้จากการไฮโดรไลซ์ไคตินซึ่งเป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์ของเชื้อรา และสามารถผลิตเอนไซม์กลูตามิเนส (glutaminase) โปรติเอส (protease) อะไมเลส (amylase) และเซลลูเลส (cellulase) ได้ในปริมาณสูงสุด

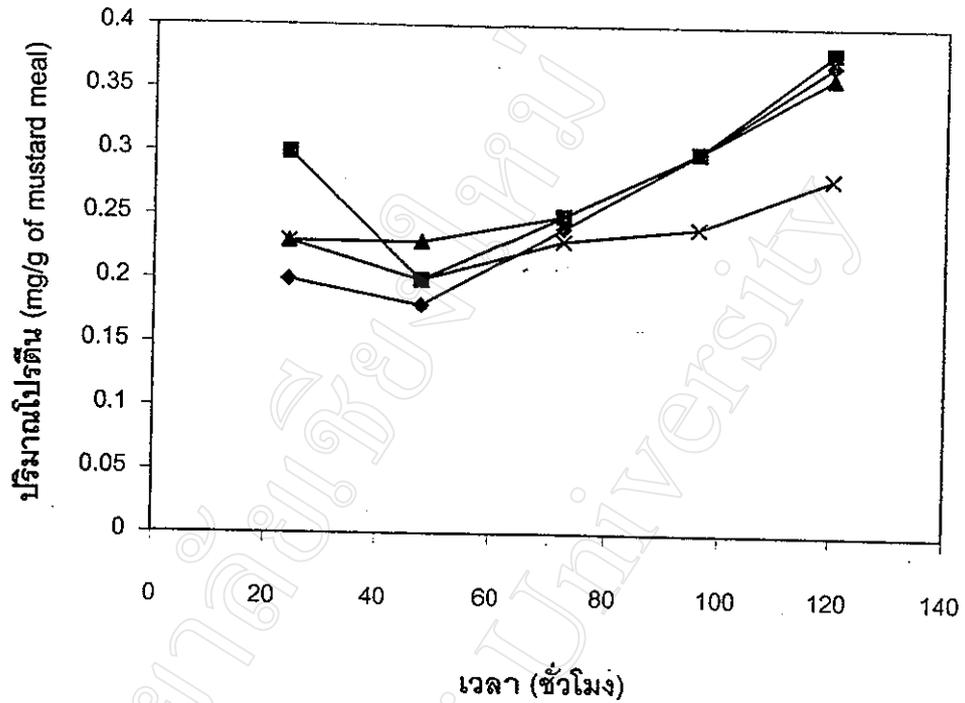
ในการทดลองได้ชั่งกากมันส์ตาร์ด 10.0 กรัม ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร จำนวน 20 ใบ จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที ทำการถ่ายเชื้อ *Aspergillus* spp.1, *Aspergillus* spp.2, *Aspergillus* spp.3 และ *Aspergillus* spp.4 ชนิดละ 5 ใบในปริมาณ 10^7 สปอร์ ลงในกากมันส์ตาร์ดที่ฆ่าเชื้อแล้ว ปรับความชื้นโดยเติมน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อ 10 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 29 องศาเซลเซียส ทำการเขย่าด้วยมือวันละ 3 ครั้ง และทำการสกัดเอนไซม์ในแต่ละเชื้อ เชื้อละ 1 ใบทุก 24 ชั่วโมงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง



รูป 3.1 แสดงแอกติวิตีของเอนไซม์ glutaminase โดยเชื้อ *Aspergillus* สายพันธุ์ต่างๆ

- ◆ A. spp.1
- A. spp.2
- ▲ A. spp.3
- x A. spp.4

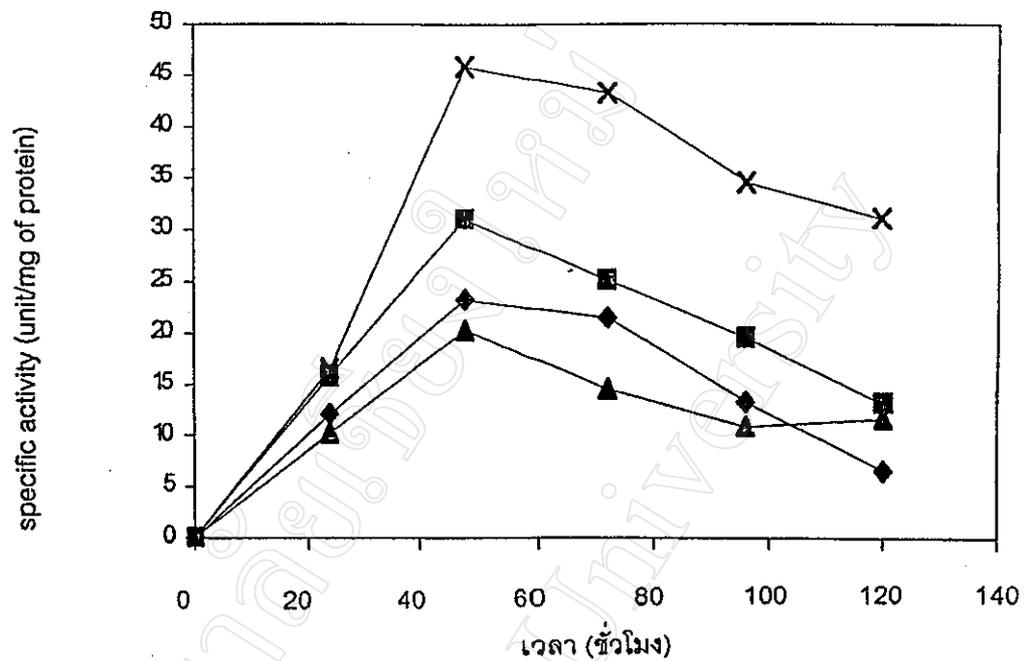
จากกราฟในรูป 3.1 แสดงความสามารถของเชื้อแต่ละชนิดในการผลิตเอนไซม์ glutaminase พบว่า เชื้อ *Aspergillus* spp.4 สามารถผลิตได้สูงสุดในปริมาณ 9.52 หน่วยต่อกรัม ของกากมันฝรั่ง รองลงมาคือ *Aspergillus* spp.3, *Aspergillus* spp.2 และ *Aspergillus* spp.1 ในปริมาณ 7.71, 5.50 และ 4.73 หน่วยต่อกรัมของกากมันฝรั่งตามลำดับ



รูป 3.2 แสดงปริมาณโปรตีนในสารละลายเอนไซม์ glutaminase, amylase และ protease โดยเชื้อ *Aspergillus* สายพันธุ์ต่างๆ

- ◆ A. spp.1
- A. spp.2
- ▲ A. spp.3
- × A. spp.4

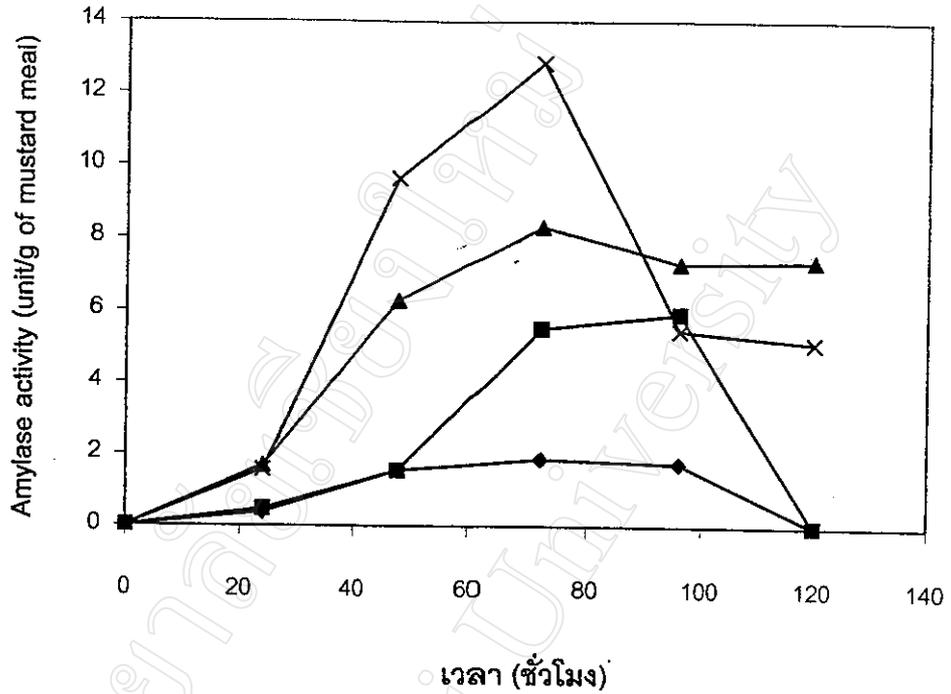
จากกราฟในรูป 3.2 แสดงปริมาณโปรตีนในสารละลายเอนไซม์ glutaminase, amylase และ protease พบว่า ปริมาณโปรตีนในแต่ละเชื้อจะลดลงเล็กน้อยในวันที่สองของการเพาะเลี้ยง และจะมีปริมาณเพิ่มสูงขึ้นจนถึงวันที่ห้าในการเพาะเลี้ยง



รูป 3.3 แสดง specific activity ของเอนไซม์ glutaminase โดยเชื้อ *Aspergillus* สายพันธุ์ต่างๆ

- ◆ A.spp.1
- A.spp.2
- ▲ A.spp.3
- × A.spp.4

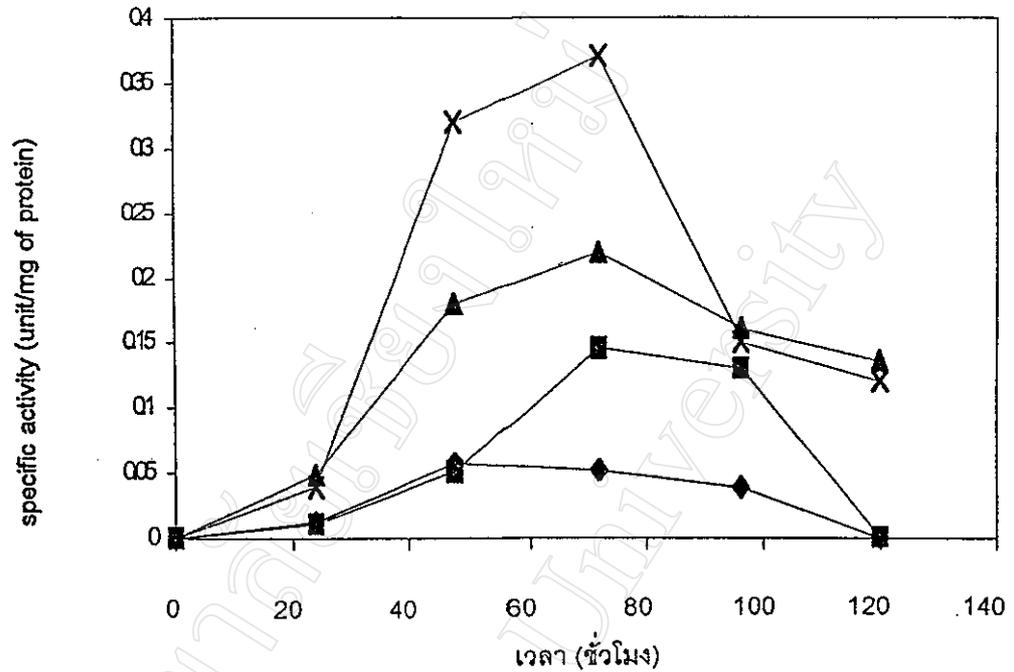
จากกราฟในรูป 3.3 แสดงความสามารถของเชื้อแต่ละชนิดในการผลิตเอนไซม์ glutaminase ในรูปของ specific activity พบว่า เชื้อ *Aspergillus* spp.4 สามารถผลิตได้สูงสุดในปริมาณ 47.60 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน รองลงมาคือ *Aspergillus* spp.3, *Aspergillus* spp.2 และ *Aspergillus* spp.1 ในปริมาณ 33.50, 27.50 และ 26.30 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีนตามลำดับ



รูป 3.4 แสดงแอกติวิตีของเอนไซม์ amylase โดยเชื้อ *Aspergillus* สายพันธุ์ต่างๆ

- ◆ A. spp.1
- A. spp.2
- ▲ A. spp.3
- × A. spp.4

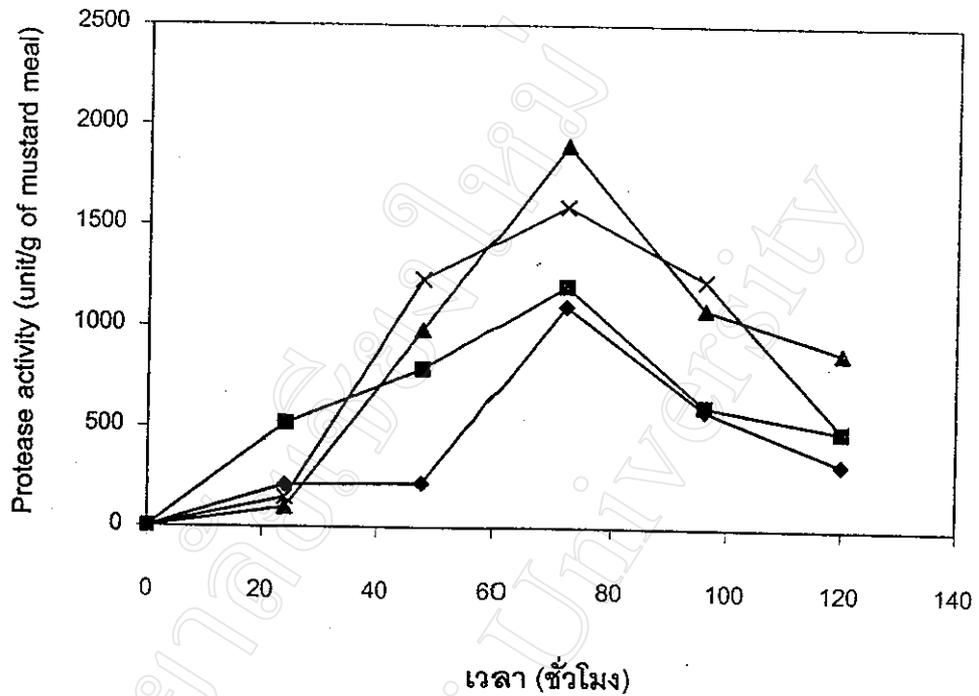
จากกราฟในรูป 3.4 แสดงความสามารถของเชื้อแต่ละชนิดในการผลิตเอนไซม์ amylase พบว่า เชื้อ *Aspergillus* spp.4 สามารถผลิตได้สูงสุดในปริมาณ 12.86 ยูนิตต่อกรัมของกากมันส์ตาร์ด รองลงมาคือ *Aspergillus* spp.3, *Aspergillus* spp.2 และ *Aspergillus* spp.1 ในปริมาณ 8.30, 5.90 และ 1.86 ยูนิตต่อกรัมของกากมันส์ตาร์ดตามลำดับ



รูป 3.5 แสดง specific activity ของเอนไซม์ amylase โดยเชื้อ *Aspergillus* สายพันธุ์ต่างๆ

- ◆ A. spp.1
- A. spp.2
- ▲ A. spp.3
- ✕ A. spp.4

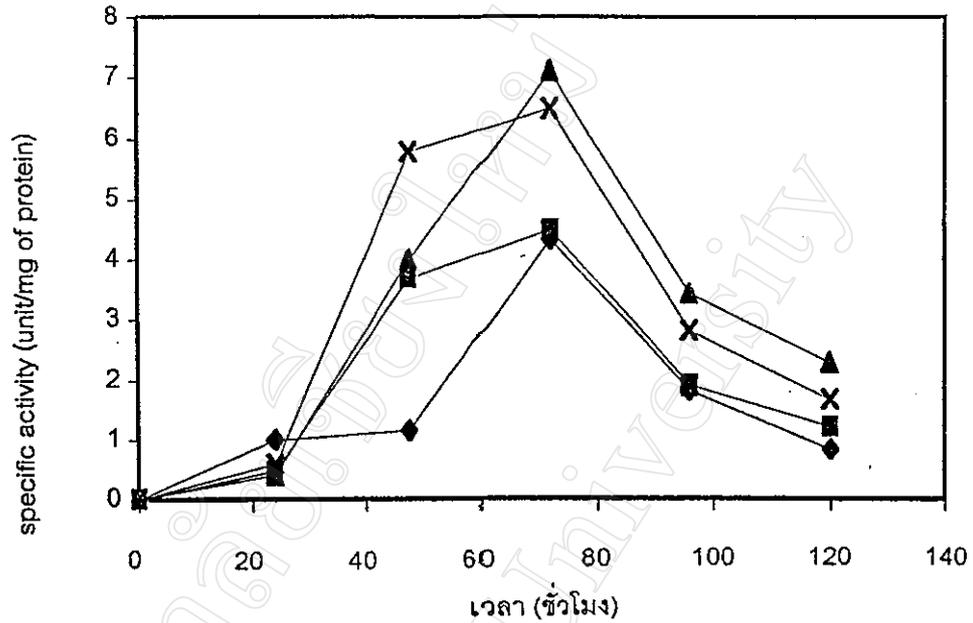
จากกราฟในรูป 3.5 แสดงความสามารถของเชื้อแต่ละชนิดในการผลิตเอนไซม์ amylase ในรูปของ specific activity พบว่า เชื้อ *Aspergillus* spp.4 สามารถผลิตได้สูงสุดในปริมาณ 0.37 หน่วยต่อมิลลิกรัมโปรตีน รองลงมาคือ *Aspergillus* spp.3, *Aspergillus* spp.2 และ *Aspergillus* spp.1 ในปริมาณ 0.22, 0.15 และ 0.06 หน่วยต่อมิลลิกรัมโปรตีนตามลำดับ



รูป 3.6 แสดงแอกติวิตีของเอนไซม์ protease โดยเชื้อ *Aspergillus* สายพันธุ์ต่างๆ

- ◆ A. spp.1
- A. spp.2
- ▲ A. spp.3
- × A. spp.4

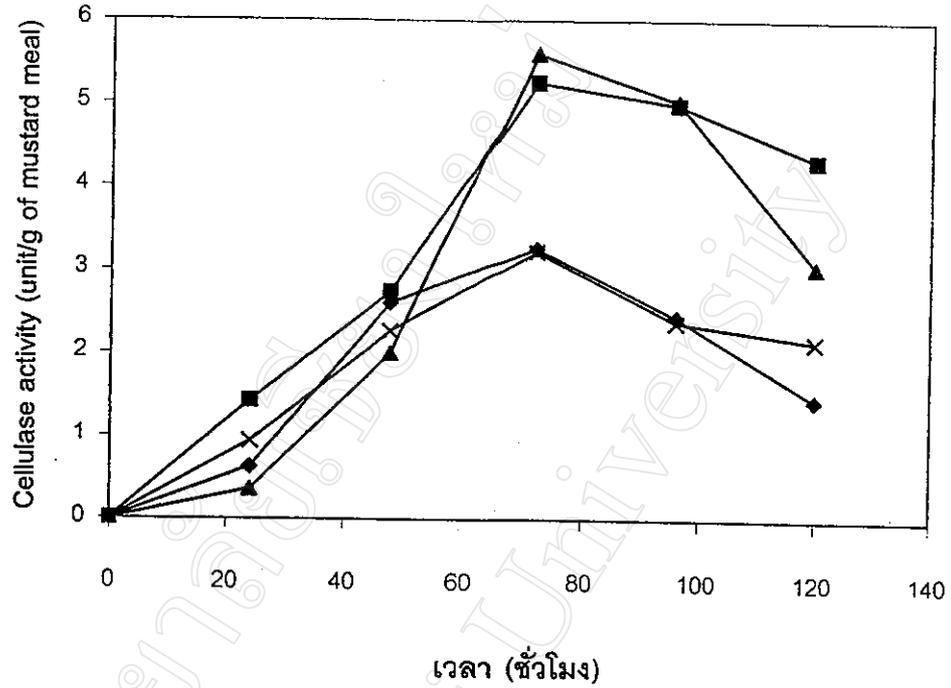
จากกราฟในรูป 3.6 แสดงความสามารถของเชื้อแต่ละชนิดในการผลิตเอนไซม์ protease พบว่า เชื้อ *Aspergillus* spp.3 สามารถผลิตได้สูงสุดในปริมาณ 1905 หน่วยต่อกรัมของกากมันฝรั่ง รองลงมาคือ *Aspergillus* spp.4, *Aspergillus* spp.2 และ *Aspergillus* spp.1 ในปริมาณ 1600, 1204 และ 1104 หน่วยต่อกรัมของกากมันฝรั่งตามลำดับ



รูป 3.7 แสดง specific activity ของเอนไซม์ protease โดยเชื้อ *Aspergillus* สายพันธุ์ต่างๆ

- ◆ A spp.1
- A spp.2
- ▲ A spp.3
- × A spp.4

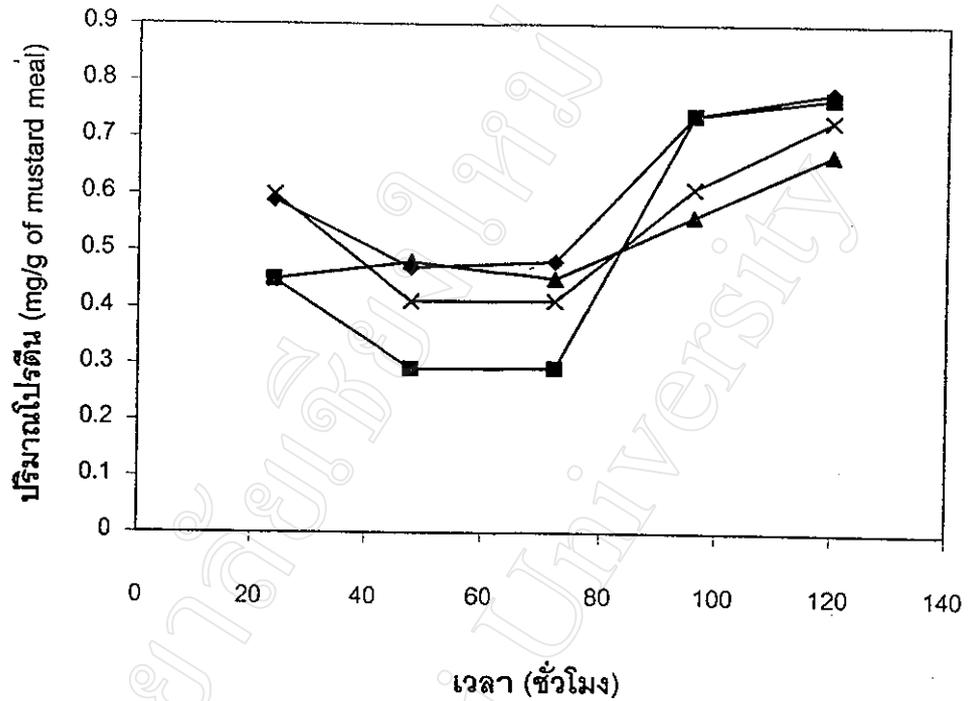
จากกราฟในรูป 3.7 แสดงความสามารถของเชื้อแต่ละชนิดในการผลิตเอนไซม์ protease ในรูปของ specific activity พบว่า เชื้อ *Aspergillus* spp.3 สามารถผลิตได้สูงสุดในปริมาณ 7.12 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน รองลงมาคือ *Aspergillus* spp.4, *Aspergillus* spp.2 และ *Aspergillus* spp.1 ในปริมาณ 6.50, 4.50 และ 4.33 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีนตามลำดับ



รูป 3.8 แสดงแอกติวิตีของเอนไซม์ cellulase โดยเชื้อ *Aspergillus* สายพันธุ์ต่างๆ

- ◆ A. spp.1
- A. spp.2
- ▲ A. spp.3
- × A. spp.4

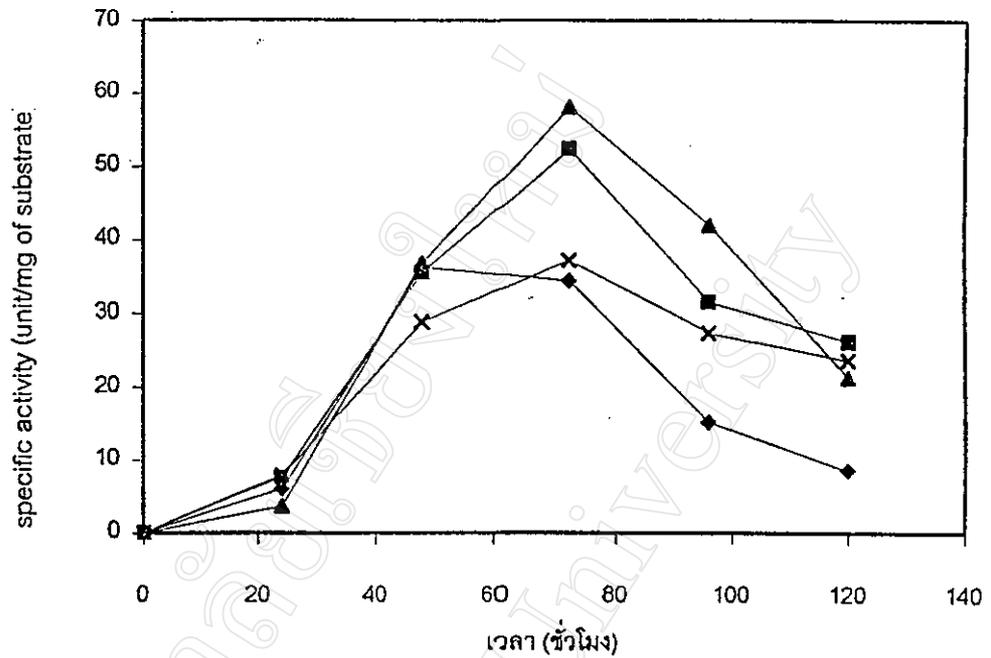
จากกราฟในรูป 3.8 แสดงความสามารถของเชื้อแต่ละชนิดในการผลิตเอนไซม์ cellulase พบว่า เชื้อ *Aspergillus* spp.3 สามารถผลิตได้สูงสุดในปริมาณ 5.60 หน่วยต่อกรัมของกากมันส์ตาร์ด รองลงมาคือ *Aspergillus* spp.2, *Aspergillus* spp.1 และ *Aspergillus* spp.4 ในปริมาณ 5.26, 3.26 และ 3.22 หน่วยต่อกรัมของกากมันส์ตาร์ด ตามลำดับ



รูป 3.9 แสดงปริมาณโปรตีนในสารละลายเอนไซม์ cellulase โดยเชื้อ *Aspergillus* สายพันธุ์ต่างๆ

- ◆ A. spp.1
- A. spp.2
- ▲ A. spp.3
- × A. spp.4

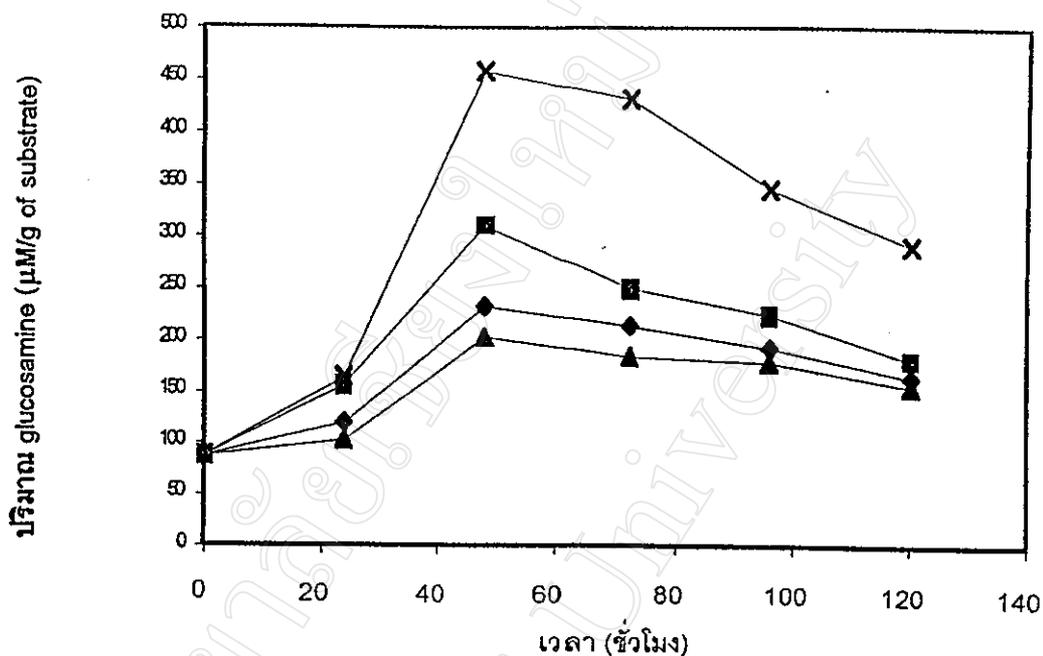
จากกราฟในรูป 3.9 แสดงปริมาณโปรตีนในสารละลายเอนไซม์ cellulase พบว่าปริมาณโปรตีนในแต่ละเชื้อจะลดลงเล็กน้อยในวันที่สองของการเพาะเลี้ยง และจะมีปริมาณเพิ่มสูงขึ้นจนถึงวันที่ห้าในการเพาะเลี้ยง



รูป 3.10 แสดง specific activity ของเอนไซม์ cellulase โดยเชื้อ *Aspergillus* สายพันธุ์ต่างๆ

- ◆ A. spp.1
- A. spp.2
- ▲ A. spp.3
- × A. spp.4

จากกราฟในรูป 3.10 แสดงความสามารถของเชื้อแต่ละชนิดในการผลิตเอนไซม์ cellulase ในรูปของ specific activity พบว่า เชื้อ *Aspergillus* spp.3 สามารถผลิตได้สูงสุดในปริมาณ 58.30 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน รองลงมาคือ *Aspergillus* spp.2, *Aspergillus* spp.4 และ *Aspergillus* spp.1 ในปริมาณ 52.60, 37.30 และ 36.40 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน ตามลำดับ



รูป 3.11 แสดงปริมาณ glucosamine โดยเชื้อ *Aspergillus* สายพันธุ์ต่างๆ

- ◆ A.spp.1
- A.spp.2
- ▲ A.spp.3
- ✕ A.spp.4

จากกราฟในรูป 3.11 แสดงความสามารถของเชื้อแต่ละชนิดในการเจริญบนกากมัสตาร์ดในสภาพการเลี้ยงบนอาหารแข็ง ในรูปของปริมาณกลูโคซามีน พบว่า เชื้อ *Aspergillus* spp.4 สามารถวัดได้สูงสุดในปริมาณ 459 ไมโครโมลต่อกรัมของกากมัสตาร์ด รองลงมาคือ *Aspergillus* spp.2, *Aspergillus* spp.1 และ *Aspergillus* spp.3 ในปริมาณ 310, 232 และ 202 ไมโครโมลต่อกรัมของกากมัสตาร์ด ตามลำดับ

ตาราง 3.1 แสดงแอกติวิตีของเอนไซม์ที่ผลิตโดยเชื้อ *Aspergillus* สายพันธุ์ต่างๆ บนอาหารแข็งของกากมันฝรั่ง

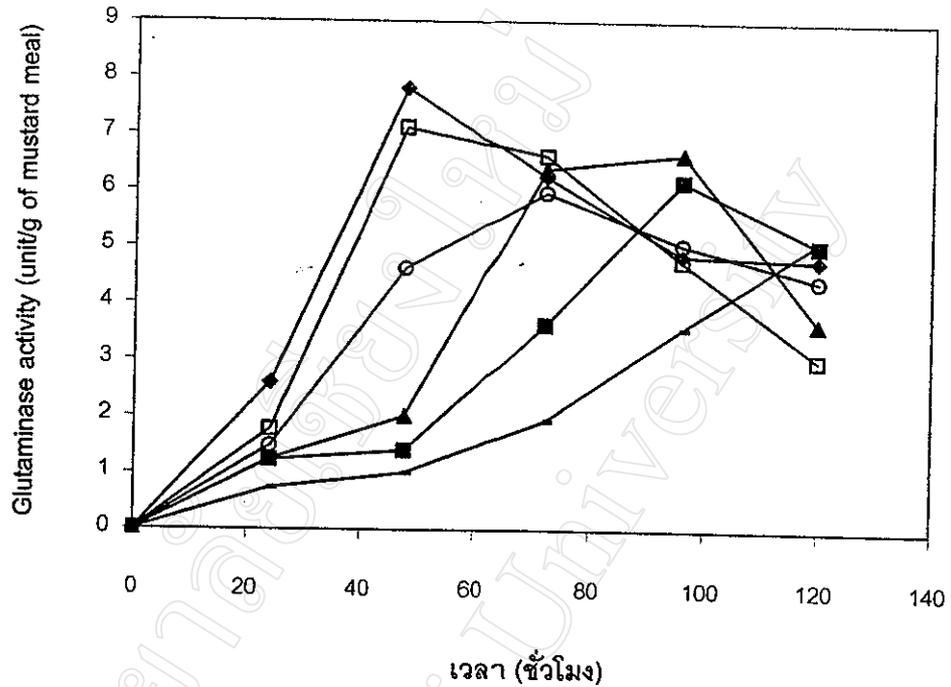
เชื้อ วันที่	กลูตามิเนส (unit/g of mustard meal)	อะไมเลส (unit/g of mustard meal)	โปรติเอส (unit/g of mustard meal)	เซลลูเลส (unit/g of mustard meal)
A. spp.1				
1	1.74	0.38	211	0.63
2	4.73	1.54	220	2.61
3	4.63	1.86	1104	3.26
4	4.59	1.75	578	2.43
5	3.26	0	325	1.44
A. spp.2				
1	2.88	0.48	520	0.72
2	5.50	1.54	792	2.75
3	5.03	5.48	1204	5.26
4	5.04	5.90	607	4.99
5	3.61	0	488	4.32
A. spp.3				
1	2.35	1.69	99	0.36
2	7.71	6.27	985	3.26
3	7.15	8.30	1905	5.60
4	7.05	7.28	1091	5.03
5	3.82	7.36	878	3.04
A. spp.4				
1	3.17	1.58	148	0.94
2	9.52	9.68	1239	2.27
3	9.25	12.86	1600	3.22
4	9.17	5.44	1233	2.37
5	8.71	5.10	494	2:14

จากการศึกษาการเจริญและการผลิตเอนไซม์ของเชื้อ *Aspergillus* สายพันธุ์ต่างๆ ในการเลี้ยงบนกากมันฝรั่งในสภาพอาหารแห้ง พบว่าเชื้อ *Aspergillus* spp.4 สามารถเจริญและผลิตเอนไซม์กลูตามิเนส และอะไมเลสได้ในปริมาณสูงสุด นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อ *Aspergillus* spp.3 สามารถผลิตเอนไซม์โปรติเอสและเซลลูเลสได้ในปริมาณสูงสุด และยังสามารถผลิตเอนไซม์กลูตามิเนส และอะไมเลส ได้ในปริมาณที่สูงรองจาก *Aspergillus* spp.4 เท่านั้น ดังนั้นจึงคัดเลือกเชื้อ *Aspergillus* spp.4 และ *Aspergillus* spp.3 ในการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและผลิตเอนไซม์กลูตามิเนส อะไมเลส โปรติเอส และเซลลูเลส ให้ได้ปริมาณสูงสุดต่อไป

3.2.2 ผลการศึกษาการเจริญและการผลิตเอนไซม์ของเชื้อ *Aspergillus* spp.4 บนกากมันฝรั่ง ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นต่างๆ

การศึกษาการเจริญและการผลิตเอนไซม์ของเชื้อ *Aspergillus* spp.4 บนอาหารแข็งของกากมันฝรั่ง ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นต่างๆกัน เป็นการทดลองเพื่อหาปริมาณเชื้อตั้งต้นที่เหมาะสมต่อการเจริญและผลิตเอนไซม์กลูตามิเนส อะไมเลส โปรติเอส และเซลลูเลส ให้ได้ในปริมาณสูงสุด

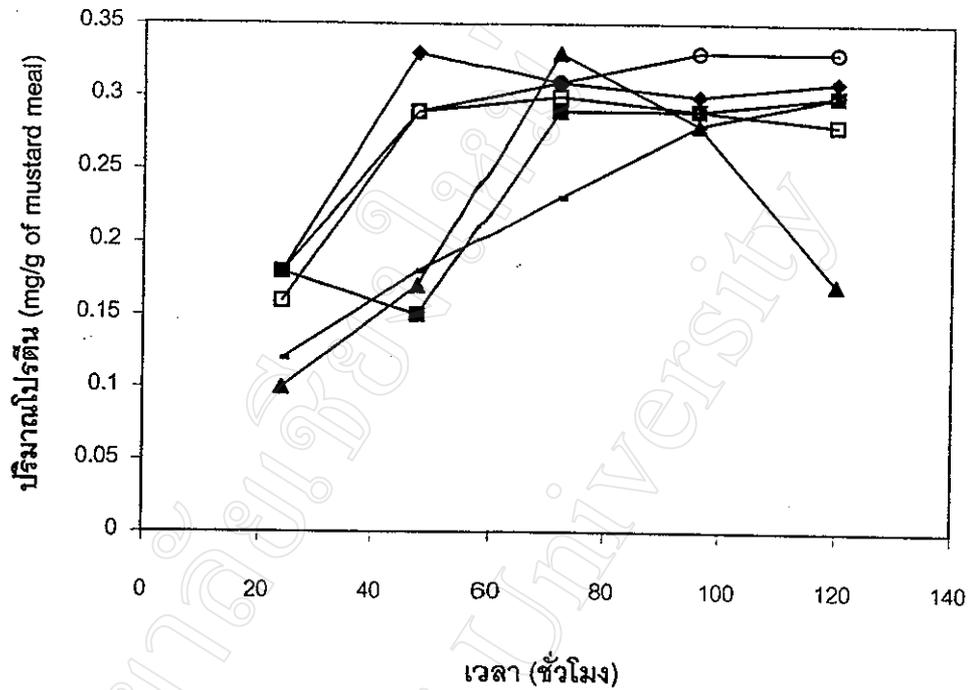
ในการทดลองได้ชั่งกากมันฝรั่ง 10.0 กรัม ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร จำนวน 30 ใบ จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที ทำการถ่ายเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ในปริมาณ 10^5 , 5×10^5 , 10^6 , 5×10^6 , 10^7 และ 5×10^7 สปอร์ ในปริมาณแต่ละเชื้อตั้งต้น เชื้อตั้งต้นละ 5 ใบ ลงในกากมันฝรั่งที่ฆ่าเชื้อแล้ว แล้วปรับความชื้นโดยเติมน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 10 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 29 องศาเซลเซียส ทำการเขย่าด้วยมือวันละ 3 ครั้ง และสกัดเอนไซม์ในแต่ละปริมาณเชื้อตั้งต้น เชื้อตั้งต้นละ 1 ใบ ทุก 24 ชั่วโมงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง



รูป 3.12 แสดงแอกติวิตีของเอนไซม์ glutaminase โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นต่างๆ

- 10⁴ spore/g of substrate
- 5x10⁴ spore/g of substrate
- ▲— 10⁵ spore/g of substrate
- 5x10⁵ spore/g of substrate
- ◇— 10⁶ spore/g of substrate
- 5x10⁶ spore/g of substrate

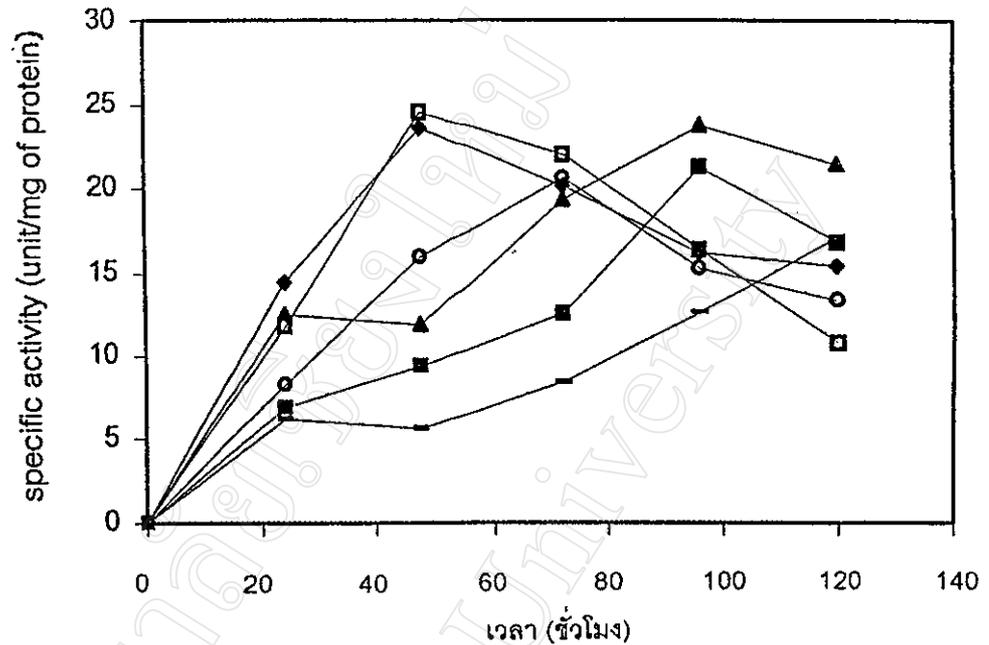
จากกราฟในรูป 3.12 แสดงความสามารถของเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ในการผลิตเอนไซม์ glutaminase ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นต่างๆกันพบว่า ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นตั้งแต่ 5x10⁴ จนถึง 5x10⁶ สปอร์ต่อกรัมของอาหาร เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์สูงสุดได้ในปริมาณใกล้เคียงกัน คือ ประมาณ 5.13 ถึง 7.82 หน่วยต่อกรัมของกากมันส์ตาร์ด เพียงแต่ใช้เวลาในการผลิตแตกต่างกัน



รูป 3.13 แสดงปริมาณโปรตีนในสารละลายเอนไซม์ glutaminase และ amylase โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นต่างๆ

- 10⁴ spore/g of substrate
- 5x10⁴ spore/g of substrate
- ▲— 10⁵ spore/g of substrate
- 5x10⁵ spore/g of substrate
- ◆— 10⁶ spore/g of substrate
- 5x10⁶ spore/g of substrate

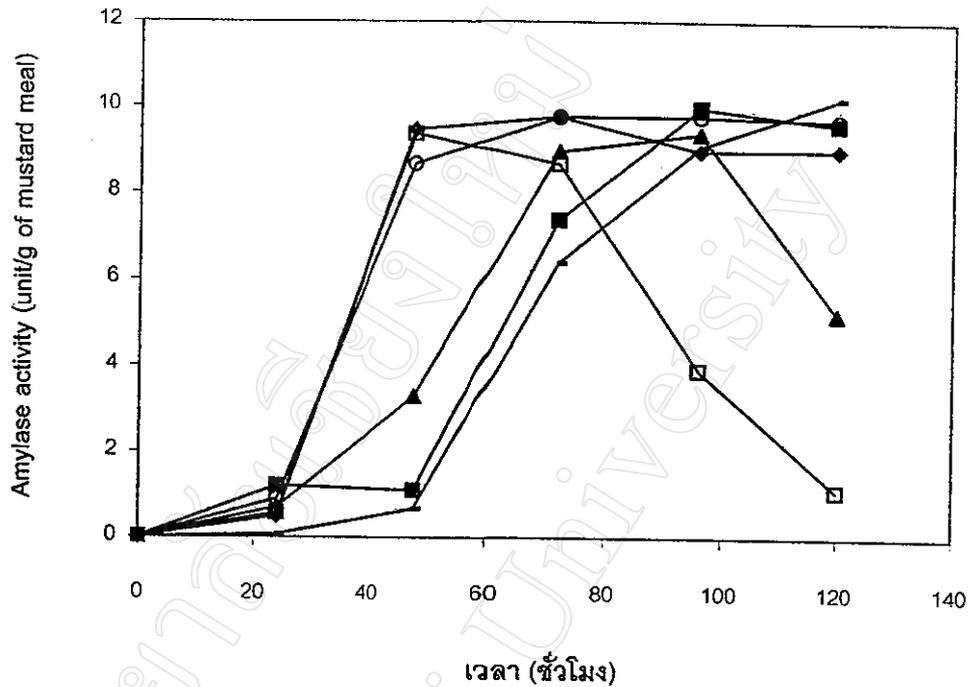
จากกราฟในรูป 3.13 แสดงปริมาณโปรตีนในสารละลายเอนไซม์ glutaminase, และ amylase พบว่า ปริมาณโปรตีนในแต่ละปริมาณเชื้อตั้งต้นจะมีปริมาณเพิ่มสูงขึ้นจนถึงวันที่ 96 ชั่วโมงในการเพาะเลี้ยง ยกเว้นใน 10⁵ สปอร์ต่อกรัมของอาหาร



รูป 3.14 แสดง specific activity ของเอนไซม์ glutaminase โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ที่ ปริมาณเชื้อตั้งต้นต่างๆ

- 10⁴ spore/g of substrate
- 5x10⁴ spore/g of substrate
- ▲— 10⁵ spore/g of substrate
- 5x10⁵ spore/g of substrate
- ◆— 10⁶ spore/g of substrate
- 5x10⁶ spore/g of substrate

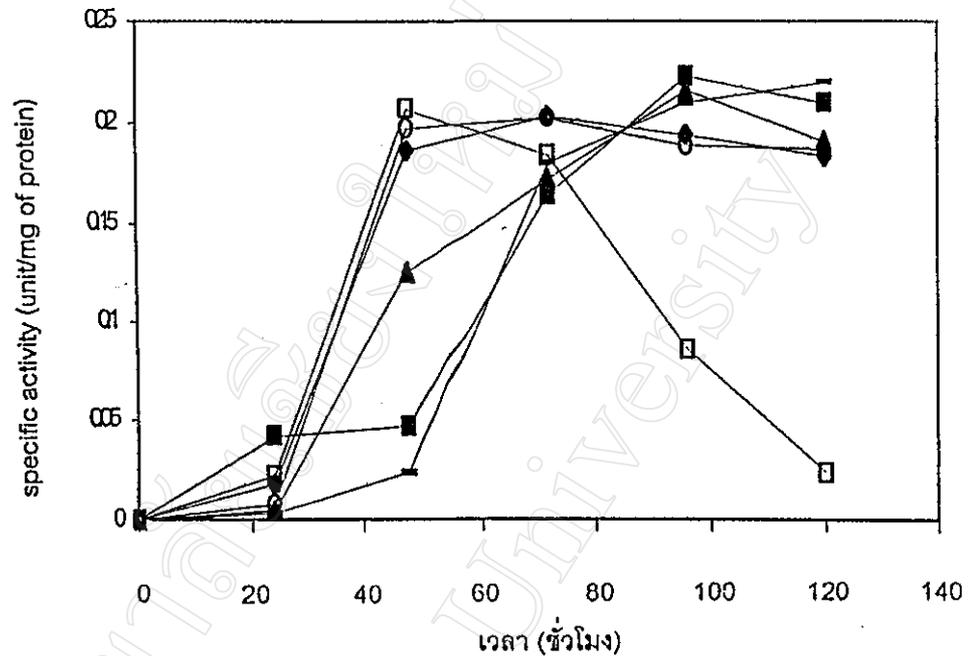
จากกราฟในรูป 3.14 แสดงความสามารถของเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ในการผลิตเอนไซม์ glutaminase ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นต่างๆกันพบว่า ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นตั้งแต่ 5x10⁴ จนถึง 5x10⁶ สปอร์ต่อกรัมของอาหาร เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์สูงสุดได้ในปริมาณใกล้เคียงกัน คือ ประมาณ 20.70 ถึง 24.60 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน เพียงแต่ใช้เวลาแตกต่างกันโดยที่ปริมาณเชื้อตั้งต้น 5x10⁴ และ 10⁵ สปอร์ต่อกรัมของอาหาร ใช้เวลาในการผลิตสูงสุด 3 วัน แต่ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นตั้งแต่ 5x10⁵ จนถึง 5x10⁶ สปอร์ต่อกรัมของอาหาร ใช้เวลาในการผลิตสูงสุด 2 วัน



รูป 3.15 แสดงแอกติวิตีของเอนไซม์ amylase โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นต่างๆ

- 10⁴ spore/g of substrate
- 5x10⁴ spore/g of substrate
- ▲— 10⁵ spore/g of substrate
- 5x10⁵ spore/g of substrate
- ◆— 10⁶ spore/g of substrate
- 5x10⁶ spore/g of substrate

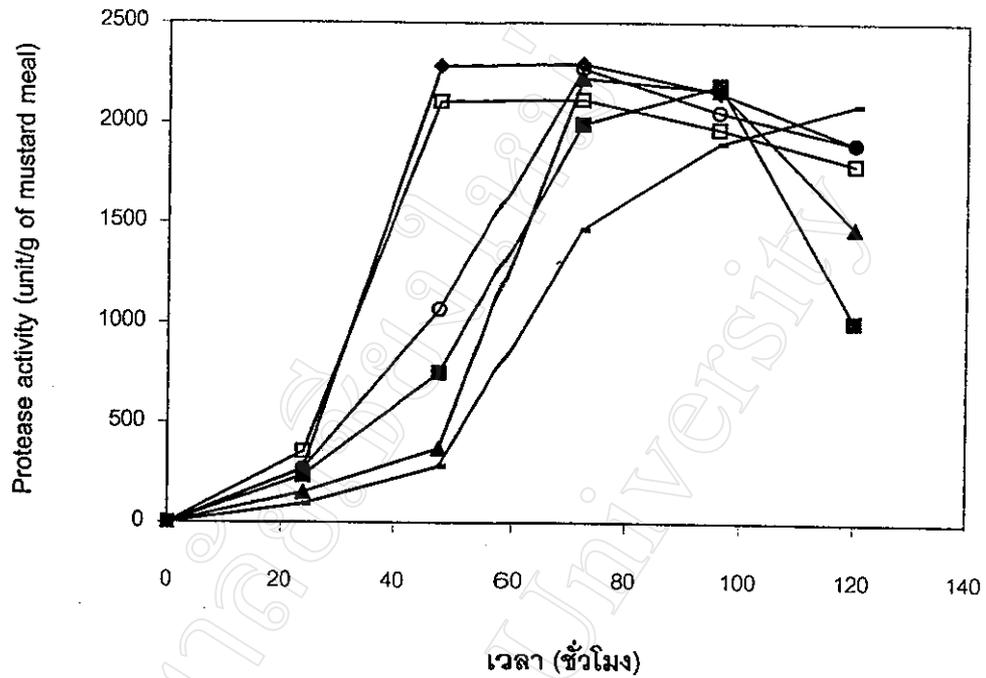
จากกราฟในรูป 3.15 แสดงความสามารถของเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ในการผลิตเอนไซม์ amylase ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นต่างๆกันพบว่า ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นตั้งแต่ 10⁴ จนถึง 5x10⁶ สปอร์ต่อกรัมของอาหาร เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์สูงสุดได้ในปริมาณใกล้เคียงกัน คือประมาณ 9.40 ถึง 10.20 ยูนิตต่อกรัมของกากมันสำปะรด เพียงแต่ใช้เวลาในการผลิตแตกต่างกัน



รูป 3.16 แสดง specific activity ของเอนไซม์ amylase โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ที่ ปริมาณเชื้อตั้งต้นต่างๆ

- 10⁴ spore/g of substrate
- 5x10⁴ spore/g of substrate
- ▲ 10⁵ spore/g of substrate
- 5x10⁵ spore/g of substrate
- ◆ 10⁶ spore/g of substrate
- 5x10⁶ spore/g of substrate

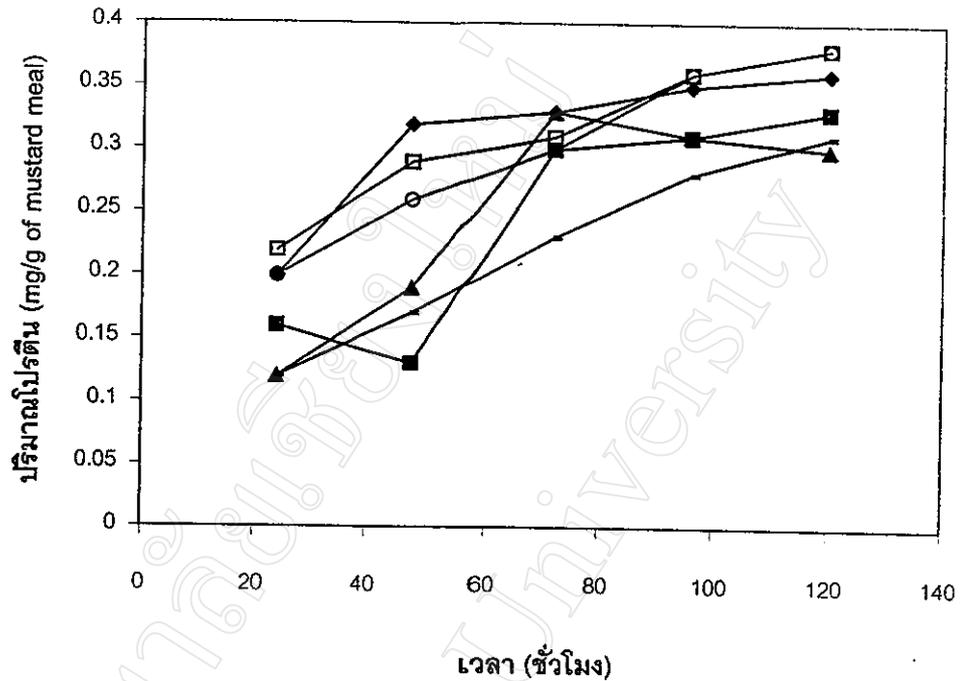
จากกราฟในรูป 3.16 แสดงความสามารถของเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ในการผลิต เอนไซม์ amylase ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นต่างๆกันพบว่า ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นตั้งแต่ 10⁴ จนถึง 5x10⁶ สปอร์ต่อกรัมของอาหาร เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์สูงสุดได้ในปริมาณใกล้เคียงกัน คือประมาณ 0.20 ถึง 0.22 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน เพียงแต่ใช้เวลาแตกต่างกันโดยที่ปริมาณเชื้อตั้งต้น 10⁴ สปอร์ต่อกรัมของอาหาร ใช้เวลาในการผลิตสูงสุด 5 วัน ที่ 5x10⁵ และ 10⁵ ใช้เวลา 4 วัน ที่ 5x10⁵ และ 10⁶ ใช้เวลา 3 วัน ส่วนที่ 5x10⁶ ใช้เวลาในการผลิตสูงสุด 2 วัน



รูป 3.17 แสดงแอกติวิตีของเอนไซม์ protease โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นต่างๆ

- 10⁴ spore/g of substrate
- 5x10⁴ spore/g of substrate
- ▲— 10⁵ spore/g of substrate
- 5x10⁵ spore/g of substrate
- ◆— 10⁶ spore/g of substrate
- 5x10⁶ spore/g of substrate

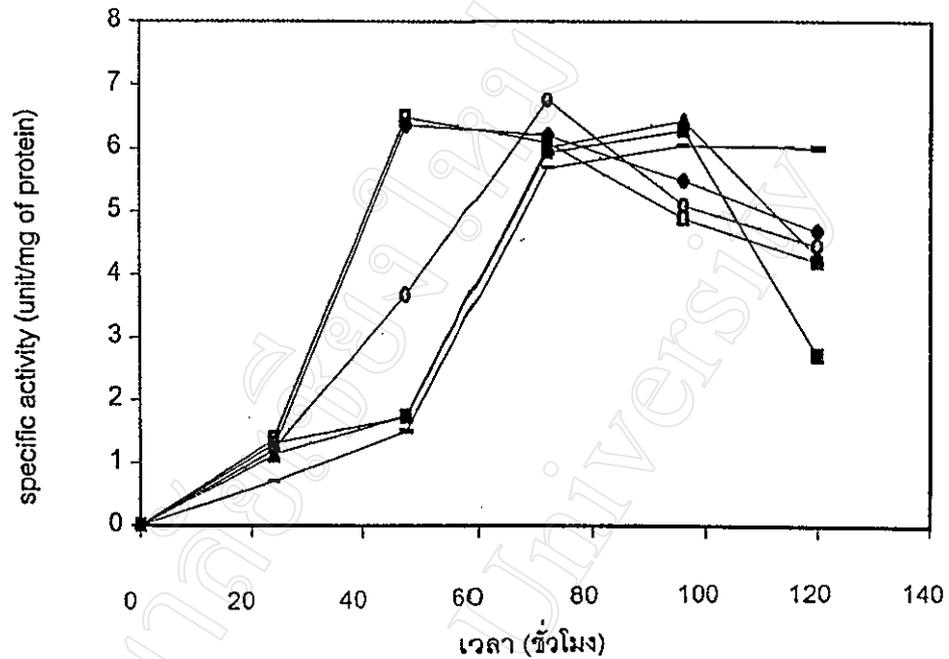
จากกราฟในรูป 3.17 แสดงความสามารถของเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ในการผลิตเอนไซม์ protease ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นต่างๆกันพบว่า ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นตั้งแต่ 10⁴ จนถึง 5x10⁶ สปอร์ต่อกรัมของอาหาร เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์สูงสุดได้ในปริมาณใกล้เคียงกัน คือประมาณ 2090 ถึง 2273 หน่วยต่อกรัมของกากมันฝรั่ง เพียงแต่ใช้เวลาในการผลิตแตกต่างกัน



รูป 3.18 แสดงปริมาณโปรตีนในสารละลายเอนไซม์ protease โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นต่างๆ

- 10⁴ spore/g of substrate
- 5x10⁴ spore/g of substrate
- ▲— 10⁵ spore/g of substrate
- 5x10⁵ spore/g of substrate
- ◇— 10⁶ spore/g of substrate
- 5x10⁶ spore/g of substrate

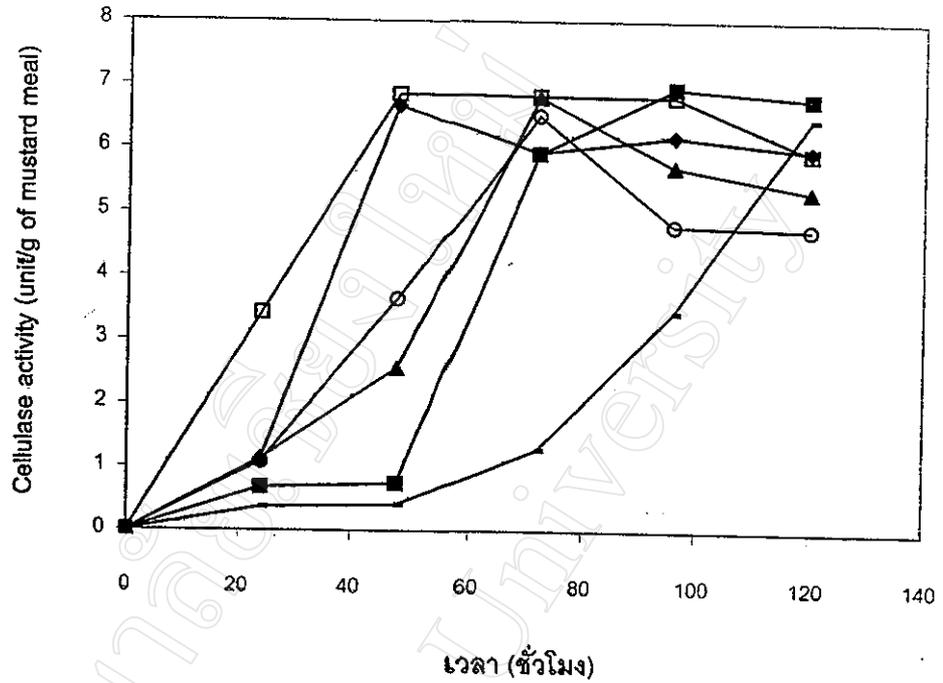
จากกราฟในรูป 3.18 แสดงปริมาณโปรตีนในสารละลายเอนไซม์ protease พบว่า ปริมาณโปรตีนในแต่ละปริมาณเชื้อตั้งต้นจะมีปริมาณเพิ่มสูงขึ้นจนถึงวันที่ทำให้การเพาะเลี้ยง ยกเว้นใน 10⁵ สปอร์ต่อกรัมของอาหาร



รูป 3.19 แสดง specific activity ของเอนไซม์ protease โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ที่ ปริมาณเชื้อตั้งต้นต่างๆ

- 10⁴ spore/g of substrate
- 5x10⁴ spore/g of substrate
- ▲— 10⁵ spore/g of substrate
- 5x10⁵ spore/g of substrate
- ◆— 10⁶ spore/g of substrate
- 5x10⁶ spore/g of substrate

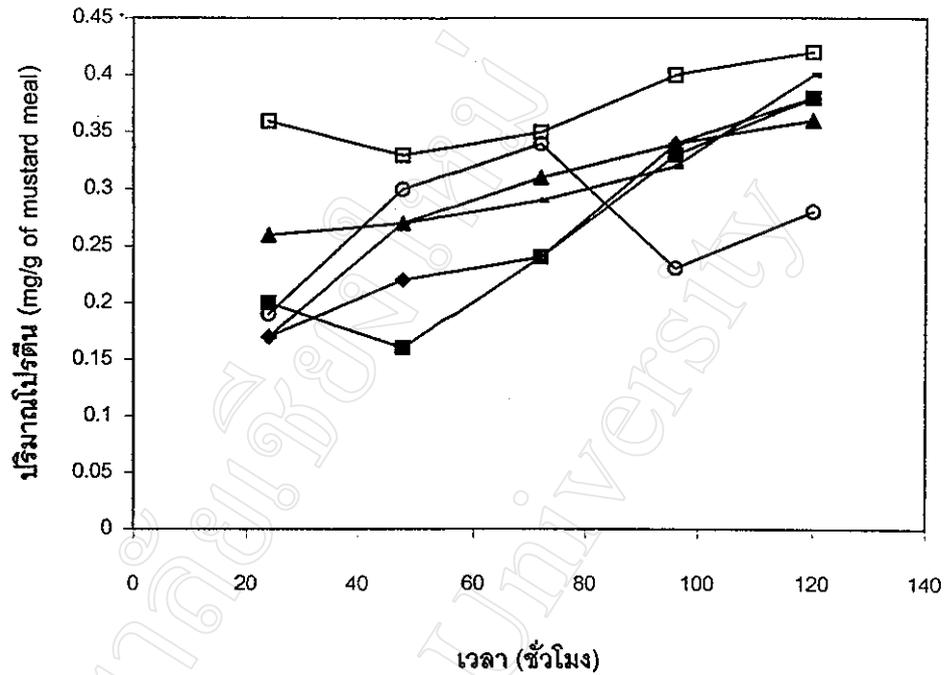
จากกราฟในรูป 3.19 แสดงความสามารถของเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ในการผลิต เอนไซม์ protease ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นต่างๆกันพบว่า ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นตั้งแต่ 10⁴ จนถึง 5x10⁶ สปอร์ต่อกรัมของอาหาร เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์สูงสุดได้ในปริมาณใกล้เคียงกัน คือประมาณ 6.05 ถึง 6.78 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน เพียงแต่ใช้เวลาแตกต่างกัน โดยที่ปริมาณเชื้อตั้งต้น 10⁴ 5x10⁵ และ 10⁵ สปอร์ต่อกรัมของอาหาร ใช้เวลาในการผลิตสูงสุด 4 วัน ที่ 5x10⁵ ใช้เวลา 3 วัน ที่ 10⁶ และ 5x10⁶ ใช้เวลาในการผลิตสูงสุด 2 วัน



รูป 3.20 แสดงแอกติวิตีของเอนไซม์ cellulase โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นต่างๆ

- 10^4 spore/g of substrate
- 5×10^4 spore/g of substrate
- ▲ 10^5 spore/g of substrate
- 5×10^5 spore/g of substrate
- ◆ 10^6 spore/g of substrate
- 5×10^6 spore/g of substrate

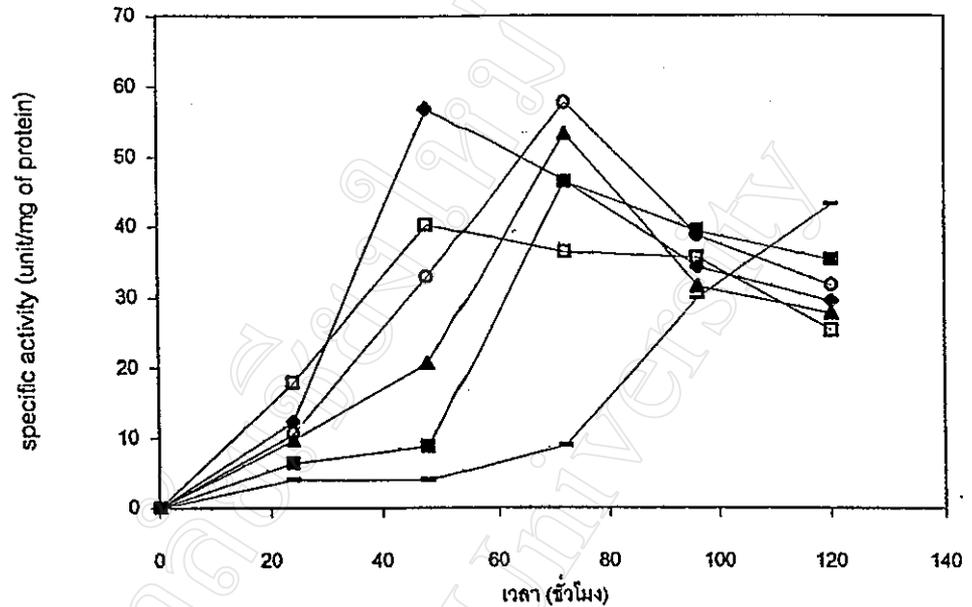
จากกราฟในรูป 3.20 แสดงความสามารถของเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ในการผลิตเอนไซม์ cellulase ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นต่างๆกันพบว่า ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นตั้งแต่ 10^4 จนถึง 5×10^6 สปอร์ต่อกรัมของอาหาร เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์สูงสุดได้ในปริมาณใกล้เคียงกัน คือประมาณ 6.46 ถึง 6.95 ยูนิตต่อกรัมของกากมันสำปะรด เพียงแต่ใช้เวลาในการผลิตแตกต่างกัน



รูป 3.21 แสดงปริมาณโปรตีนในสารละลายเอนไซม์ cellulase โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นต่างๆ

- 10^4 spore/g of substrate
- 5×10^4 spore/g of substrate
- ▲ 10^5 spore/g of substrate
- 5×10^5 spore/g of substrate
- ◆ 10^6 spore/g of substrate
- 5×10^6 spore/g of substrate

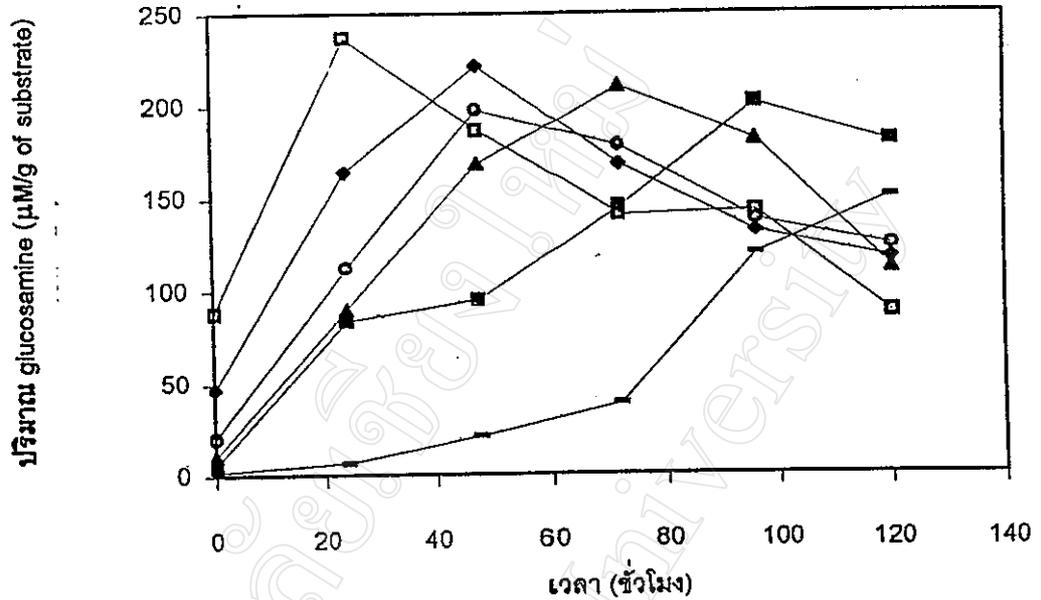
จากกราฟในรูป 3.21 แสดงปริมาณโปรตีนในสารละลายเอนไซม์ protease พบว่า ปริมาณโปรตีนในแต่ละปริมาณเชื้อตั้งต้นจะมีปริมาณเพิ่มสูงขึ้นจนถึงวันที่ทำการเพาะเลี้ยง ยกเว้นใน 5×10^5 สปอร์ต่อกรัมของอาหาร



รูป 3.22 แสดง specific activity ของเอนไซม์ cellulase โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ที่ ปริมาณเชื้อตั้งต้นต่างๆ

- 10⁴ spore/g of substrate
- 5x10⁴ spore/g of substrate
- ▲— 10⁵ spore/g of substrate
- 5x10⁵ spore/g of substrate
- ◆— 10⁶ spore/g of substrate
- 5x10⁶ spore/g of substrate

จากกราฟในรูป 3.22 แสดงความสามารถของเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ในการผลิต เอนไซม์ cellulase ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นต่างๆกันพบว่า ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้น 5x10⁵ สปอร์ต่อกรัมของ อาหาร เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์สูงสุดได้ในปริมาณ 57.64 หน่วยต่อมิลลิกรัมโปรตีน โดยใช้เวลาในการผลิตสูงสุด 3 วัน รองลงมาคือที่ 10⁶ สปอร์ต่อกรัมของอาหาร เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์สูงสุดได้ ในปริมาณ 56.89 หน่วยต่อมิลลิกรัมโปรตีน โดยใช้เวลาในการผลิตสูงสุดเพียง 2 วัน



รูป 3.23 แสดงปริมาณ glucosamine โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นต่างๆ

- 10⁴ spore/g of substrate
- 5x10⁴ spore/g of substrate
- ▲— 10⁵ spore/g of substrate
- 5x10⁵ spore/g of substrate
- ◆— 10⁶ spore/g of substrate
- 5x10⁶ spore/g of substrate

จากกราฟในรูป 3.23 แสดงความสามารถของเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ในการเจริญบนกากมันสำปะรดที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นตั้งแต่ 10⁴ ถึง 5x10⁶ สปอร์ต่อกรัมของอาหาร ในรูปของปริมาณกลูโคซามีน พบว่า ที่ 10⁴ สปอร์ต่อกรัมของอาหาร สามารถวัดได้สูงสุด 150.70 ไมโครโมลต่อกรัมของอาหาร ในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง ที่ 5x10⁴ สามารถวัดได้สูงสุด 202.00 ในวันที่ 4 ของการเพาะเลี้ยง ที่ 10⁵ สามารถวัดได้สูงสุด 211.10 ในวันที่ 3 ของการเพาะเลี้ยง ส่วนที่ 5x10⁶, 10⁶ และ 5x10⁶ สปอร์ต่อกรัมของอาหาร สามารถวัดได้สูงสุด 198.30, 222.20 และ 237.40 ไมโครโมลต่อกรัมของอาหารในวันที่ 2 ของการเพาะเลี้ยง

ตาราง 3.2 แสดงแอกติวิตีของเอนไซม์ที่ผลิตโดยเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ที่ปริมาณเชื้อตั้ง
ต้นต่างๆ

ปริมาณเชื้อตั้งต้น วันที่	กลูตามิเนส (unit/g of mustard meal)	อะไมเลส (unit/g of mustard meal)	โปรติเอส (unit/g of mustard meal)	เซลลูเลส (unit/g of mustard meal)
10^4 (spore/g of mustard meal)				
1	0.74	0.07	94.3	0.37
2	1.01	0.67	282.1	0.41
3	1.93	6.40	1464	1.27
4	3.56	9.10	1896	3.42
5	5.13	10.20	2090	6.46
5×10^4 (spore/g of mustard meal)				
1	1.24	1.20	236	0.68
2	1.41	1.10	750	0.74
3	3.63	7.40	1994	5.93
4	6.18	10.00	2188	6.95
5	5.04	9.60	1004	6.78
10^5 (spore/g of mustard meal)				
1	1.25	0.70	151	1.13
2	2.02	3.30	370	2.55
3	6.40	9.00	2225	6.81
4	6.66	9.40	2163	5.71
5	3.66	5.20	1437	5.32
5×10^5 (spore/g of mustard meal)				
1	1.49	0.90	269	1.08
2	4.64	8.70	1068	3.64
3	5.94	9.80	2273	6.52
4	5.05	9.80	2054	4.78
5	4.42	9.70	1896	4.73

ตาราง 3.2 (ต่อ)

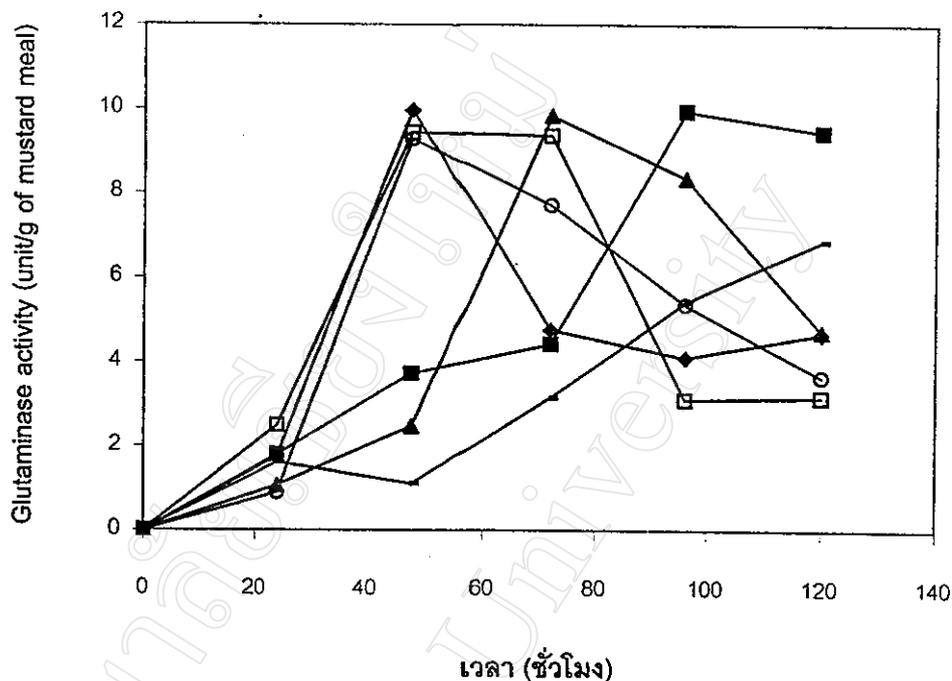
ปริมาณเชื้อตั้งต้น วันที่	กลูตามิเนต (unit/g of mustard meal)	อะไมเลส (unit/g of mustard meal)	โปรติเอส (unit/g of mustard meal)	เซลลูเลส (unit/g of mustard meal)
10^6 (spore/g of mustard meal)				
1	2.61	0.5	271	1.13
2	7.62	9.5	2285	6.68
3	6.26	9.8	2297	5.94
4	4.86	9.0	2152	6.19
5	4.78	9.0	1895	5.96
5×10^6 (spore/g of mustard meal)				
1	1.78	0.57	337	3.43
2	7.13	9.4	2112	6.86
3	6.63	8.7	2118	6.83
4	4.76	3.9	1969	6.81
5	3.02	1.1	1789	5.92

จากการศึกษาการเจริญและการผลิตเอนไซม์ของเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ในการเลี้ยงบนกากมัสตาร์ดในสภาพอาหารแข็ง ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นต่างๆกันพบว่า ปริมาณเชื้อตั้งต้นไม่มีผลต่อความสามารถในการเจริญและปริมาณเอนไซม์ที่ผลิตของเชื้อ แต่มีผลต่อช่วงเวลาในการเจริญและผลิตเอนไซม์ของเชื้อ ดังนั้นเพื่อให้เวลาในการเจริญและผลิตเอนไซม์ของเชื้อ เหมาะสมต่อการทดลอง จึงเลือกใช้ปริมาณเชื้อตั้งต้น 10^6 สปอร์ต่อกรัมของอาหารในการทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตเอนไซม์ของเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ต่อไป

3.2.2 ผลการศึกษาการเจริญและการผลิตเอนไซม์ของเชื้อ *Aspergillus* spp.4 บนกากมันฝรั่ง ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นต่างๆ

การศึกษากการเจริญและการผลิตเอนไซม์ของเชื้อ *Aspergillus* spp.4 บนอาหารแห้งของกากมันฝรั่ง ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นต่างๆกัน เป็นการทดลองเพื่อหาปริมาณเชื้อตั้งต้นที่เหมาะสมต่อการเจริญและผลิตเอนไซม์กลูตามิเนส อะไมเลส โปรติเอส และเซลลูเลส ให้ได้ในปริมาณสูงสุด

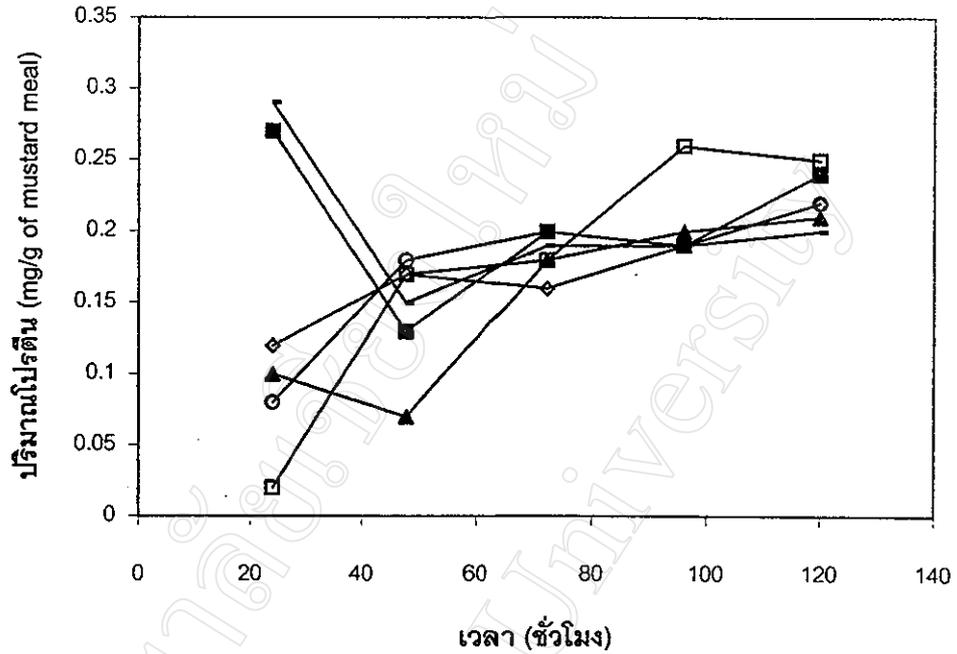
ในการทดลองได้ชั่งกากมันฝรั่ง 10.0 กรัม ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร จำนวน 30 ใบ จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที ทำการถ่ายเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ในปริมาณ 10^5 , 5×10^5 , 10^6 , 5×10^6 , 10^7 และ 5×10^7 สปอร์ ในปริมาณแต่ละเชื้อตั้งต้น เชื้อตั้งต้นละ 5 ใบ ลงในกากมันฝรั่งที่ฆ่าเชื้อแล้ว แล้วปรับความชื้นโดยเติมน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 10 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 29 องศาเซลเซียส ทำการเขย่าด้วยมือวันละ 3 ครั้ง และสกัดเอนไซม์ในแต่ละปริมาณเชื้อตั้งต้น เชื้อตั้งต้นละ 1 ใบ ทุก 24 ชั่วโมงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง



รูป 3.24 แสดงแอกติวิตีของเอนไซม์ glutaminase โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นต่างๆ

- 10⁴ spore/g of substrate
- 5x10⁴ spore/g of substrate
- ▲— 10⁵ spore/g of substrate
- 5x10⁵ spore/g of substrate
- ◆— 10⁶ spore/g of substrate
- 5x10⁶ spore/g of substrate

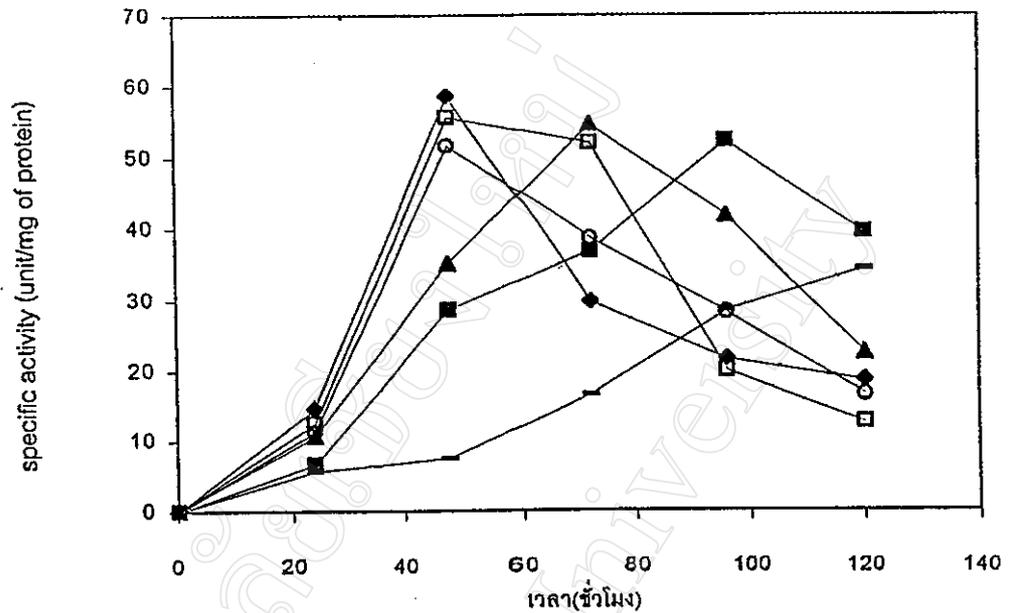
จากกราฟในรูป 3.24 แสดงความสามารถของเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ในการผลิตเอนไซม์ glutaminase ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นต่างๆกันพบว่า ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นตั้งแต่ 5x10⁴ จนถึง 5x10⁶ สปอร์ต่อกรัมของอาหาร เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์สูงสุดได้ในปริมาณใกล้เคียงกัน คือ ประมาณ 9.30 ถึง 9.98 หน่วยต่อกรัมของกากมันฝรั่ง เพียงแต่ใช้เวลาในการผลิตแตกต่างกัน



รูป 3.25 แสดงปริมาณโปรตีนในสารละลายเอนไซม์ glutaminase และ amylase โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นต่างๆ

- 10⁴ spore/g of substrate
- 5x10⁴ spore/g of substrate
- ▲ 10⁵ spore/g of substrate
- 5x10⁵ spore/g of substrate
- ◆ 10⁶ spore/g of substrate
- 5x10⁶ spore/g of substrate

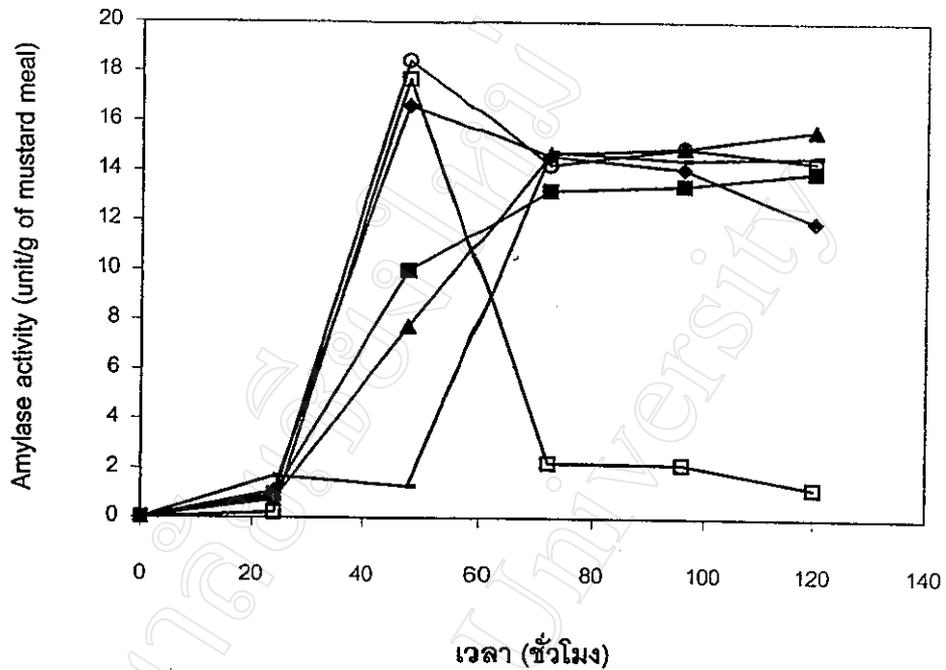
จากกราฟในรูป 3.25 แสดงปริมาณโปรตีนในสารละลายเอนไซม์ glutaminase, และ amylase พบว่า ปริมาณโปรตีนในแต่ละปริมาณเชื้อตั้งต้นจะลดลงเล็กน้อยในวันที่สองของการเพาะเลี้ยง และจะมีปริมาณเพิ่มสูงขึ้นจนถึงวันที่ห้าในการเพาะเลี้ยง



รูป 3.26 แสดง specific activity ของเอนไซม์ glutaminase โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ที่ ปริมาณเชื้อตั้งต้นต่างๆ

- 10⁴ spore/g of substrate
- 5x10⁴ spore/g of substrate
- ▲— 10⁵ spore/g of substrate
- 5x10⁵ spore/g of substrate
- ◆— 10⁶ spore/g of substrate
- ◻— 5x10⁶ spore/g of substrate

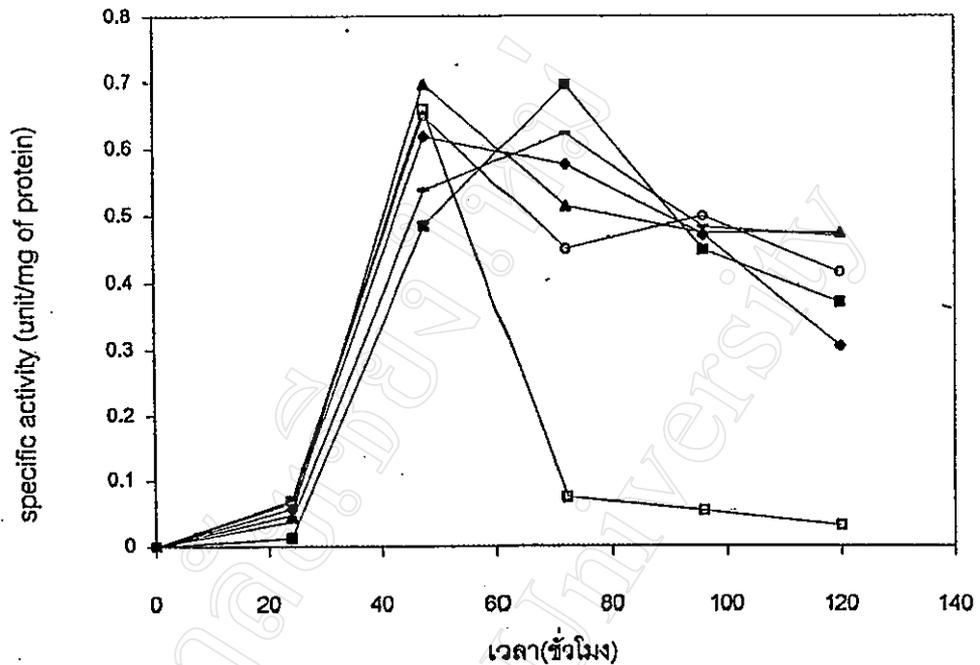
จากกราฟในรูป 3.26 แสดงความสามารถของเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ในการผลิต เอนไซม์ glutaminase ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นต่างๆกันพบว่า ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นตั้งแต่ 5x10⁴ จนถึง 5x10⁶ สปอร์ต่อกรัมของอาหาร เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์สูงสุดได้ในปริมาณใกล้เคียงกัน คือ ประมาณ 51.70 ถึง 58.70 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน เพียงแต่ใช้เวลาแตกต่างกันโดยที่ปริมาณเชื้อ ตั้งต้น 5x10⁴ สามารถผลิตได้สูงสุด ในการผลิต 4 วัน แต่ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นตั้งแต่ 10⁵ จนถึง 10⁶ สปอร์ต่อกรัมของอาหาร ใช้เวลาในการผลิตสูงสุด 3 วัน และที่ปริมาณเชื้อตั้งต้น 5x10⁶ สปอร์ต่อ กรัมของอาหาร ใช้เวลาในการผลิตสูงสุด 2 วัน



รูป 3.27 แสดงแอกติวิตีของเอนไซม์ amylase โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นต่างๆ

- 10⁴ spore/g of substrate
- - 5x10⁴ spore/g of substrate
- ▲— 10⁵ spore/g of substrate
- 5x10⁵ spore/g of substrate
- ◇— 10⁶ spore/g of substrate
- -□- - 5x10⁶ spore/g of substrate

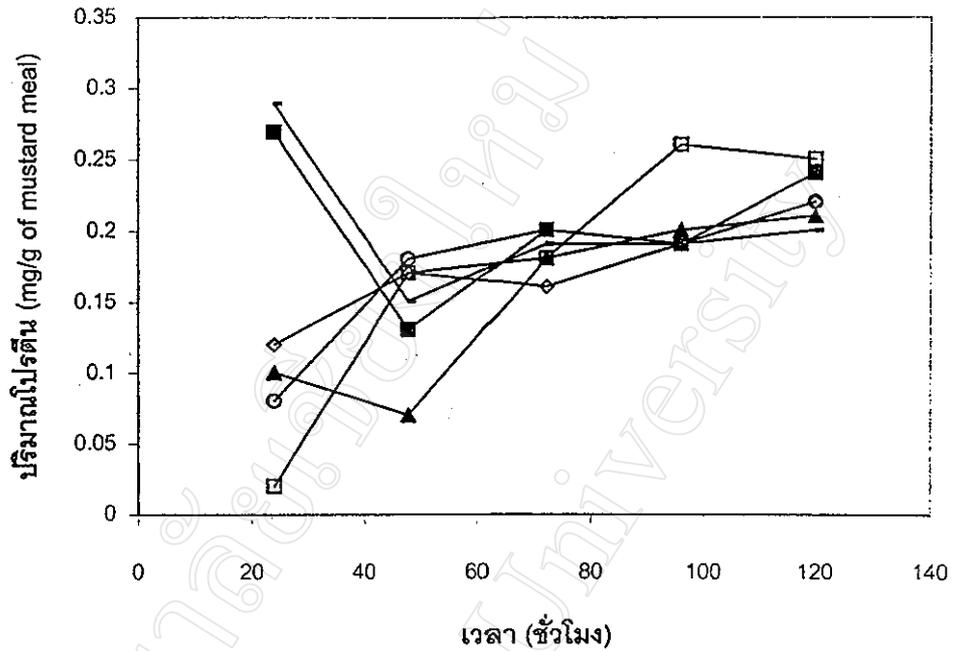
จากกราฟในรูป 3.27 แสดงความสามารถของเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ในการผลิตเอนไซม์ amylase ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นต่างๆกันพบว่า ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นตั้งแต่ 10⁴ จนถึง 5x10⁶ สปอร์ต่อกรัมของอาหาร เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์สูงสุดได้ในปริมาณใกล้เคียงกัน คือประมาณ 13.97 ถึง 17.70 หน่วยต่อกรัมของกากมันสำปะหลัง เพียงแต่ใช้เวลาในการผลิตแตกต่างกัน



รูป 3.28 แสดง specific activity ของเอนไซม์ amylase โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ที่ ปริมาณเชื้อตั้งต้นต่างๆ

- 10⁴ spore/g of substrate
- 5x10⁴ spore/g of substrate
- ▲— 10⁵ spore/g of substrate
- 5x10⁵ spore/g of substrate
- ◆— 10⁶ spore/g of substrate
- 5x10⁶ spore/g of substrate

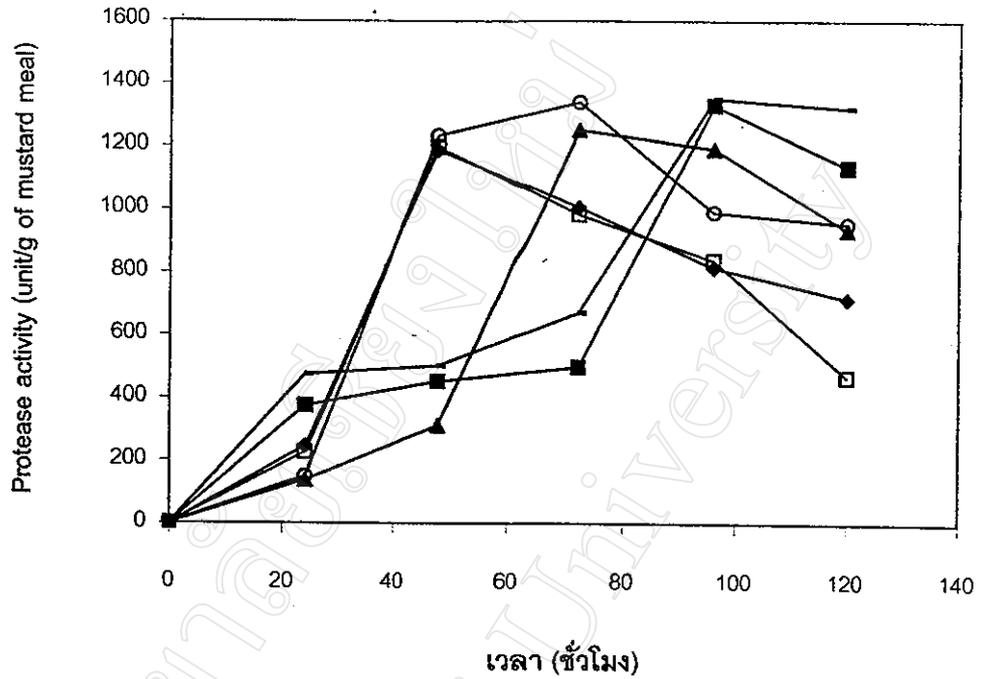
จากกราฟในรูป 3.28 แสดงความสามารถของเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ในการผลิต เอนไซม์ amylase ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นต่างๆกันพบว่า ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นตั้งแต่ 10⁴ จนถึง 5x10⁶ สปอร์ต่อกรัมของอาหาร เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์สูงสุดได้ในปริมาณใกล้เคียงกัน คือประมาณ 0.20 ถึง 0.22 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน เพียงแต่ใช้เวลาแตกต่างกันโดยที่ปริมาณเชื้อตั้งต้น 10⁴ สปอร์ต่อกรัมของอาหาร ใช้เวลาในการผลิตสูงสุด 5 วัน ที่ 5x10⁵ และ 10⁵ ใช้เวลา 4 วัน ที่ 5x10⁵ และ 10⁶ ใช้เวลา 3 วัน ส่วนที่ 5x10⁶ ใช้เวลาในการผลิตสูงสุดเพียง 2 วัน



รูป 3.29 แสดงแอกติวิตีของเอนไซม์ protease โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นต่างๆ

- 10⁴ spore/g of substrate
- 5x10⁴ spore/g of substrate
- ▲— 10⁵ spore/g of substrate
- 5x10⁵ spore/g of substrate
- ◆— 10⁶ spore/g of substrate
- 5x10⁶ spore/g of substrate

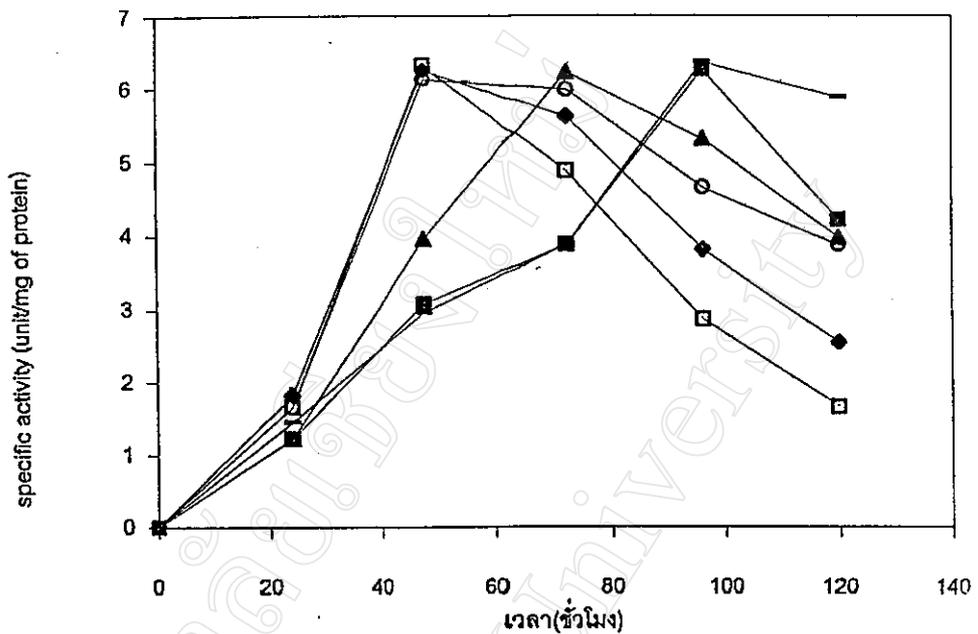
จากกราฟในรูป 3.29 แสดงความสามารถของเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ในการผลิตเอนไซม์ protease ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นต่างๆกันพบว่า ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นตั้งแต่ 10⁴ จนถึง 5x10⁶ สปอร์ต่อกรัมของอาหาร เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์สูงสุดได้ในปริมาณใกล้เคียงกัน คือประมาณ 1190 ถึง 1354 ยูนิตต่อกรัมของกากมันส์ตาร์ด เพียงแต่ใช้เวลาในการผลิตแตกต่างกัน



รูป 3.30 แสดงปริมาณโปรตีนในสารละลายเอนไซม์ protease โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นต่างๆ

- 10⁴ spore/g of substrate
- 5x10⁴ spore/g of substrate
- ▲— 10⁵ spore/g of substrate
- 5x10⁵ spore/g of substrate
- ◇— 10⁶ spore/g of substrate
- 5x10⁶ spore/g of substrate

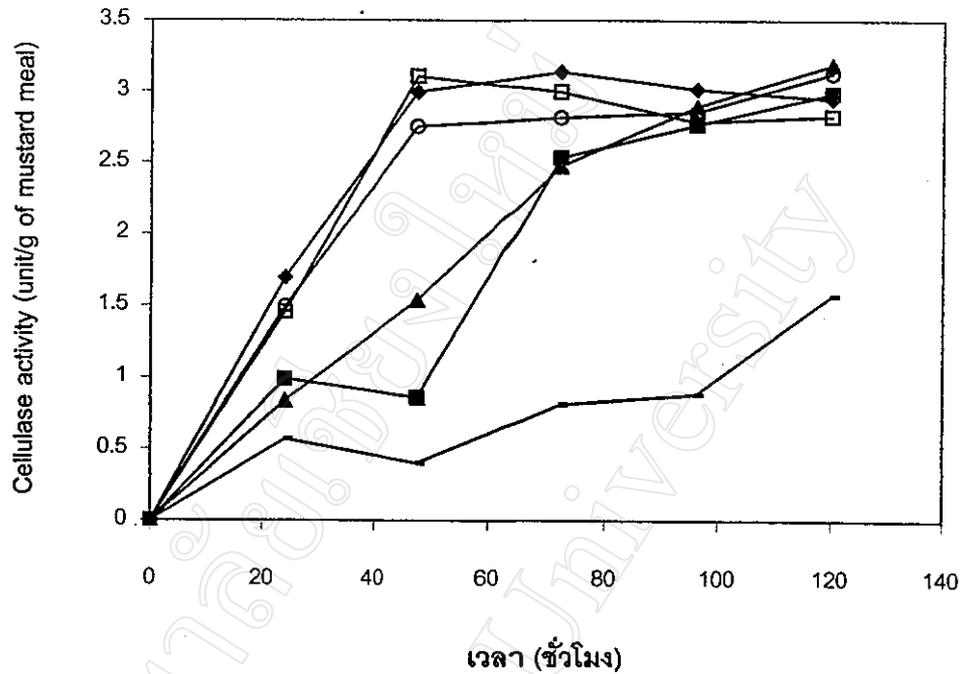
จากกราฟในรูป 3.30 แสดงปริมาณโปรตีนในสารละลายเอนไซม์ protease พบว่า ปริมาณโปรตีนจะเพิ่มสูงขึ้นจนกระทั่งวันที่สามถึงวันที่สี่ของการเพาะเลี้ยง และจะลดลงในช่วงท้ายของการเพาะเลี้ยง



รูป 3.31 แสดง specific activity ของเอนไซม์ protease โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ที่ ปริมาณเชื้อตั้งต้นต่างๆ

- 10⁴ spore/g of substrate
- 5x10⁴ spore/g of substrate
- ▲— 10⁵ spore/g of substrate
- 5x10⁵ spore/g of substrate
- ◆— 10⁶ spore/g of substrate
- 5x10⁶ spore/g of substrate

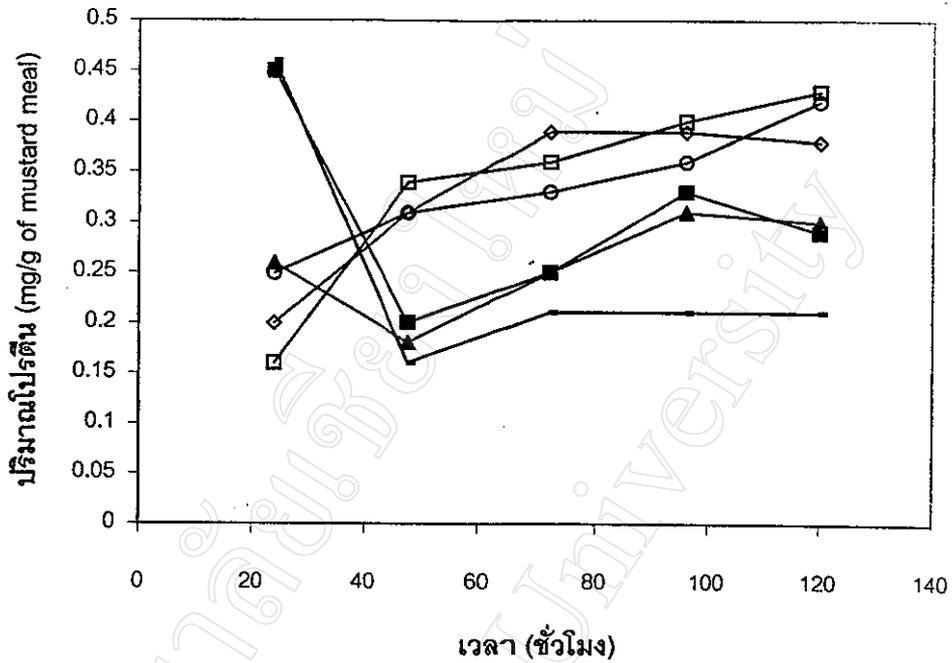
จากกราฟในรูป 3.31 แสดงความสามารถของเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ในการผลิต เอนไซม์ protease ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นต่างๆกันพบว่า ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นตั้งแต่ 10⁴ จนถึง 5x10⁶ สปอร์ต่อกรัมของอาหาร เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์สูงสุดได้ในปริมาณใกล้เคียงกัน คือประมาณ 6.14 ถึง 6.37 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน เพียงแต่ใช้เวลาแตกต่างกัน โดยที่ปริมาณเชื้อตั้งต้น 10⁴ 5x10⁴ และ 10⁵ ใช้เวลาในการผลิตสูงสุด 4 วัน ที่ 5x10⁵ และ 10⁶ ใช้เวลาในการผลิตสูงสุด 3 วัน ที่ 5x10⁶ สปอร์ต่อกรัมของอาหาร ใช้เวลาในการผลิตสูงสุด 2 วัน



รูป 3.32 แสดงแอกติวิตีของเอนไซม์ cellulase โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นต่างๆ

- 10⁴ spore/g of substrate
- 5x10⁴ spore/g of substrate
- ▲ 10⁵ spore/g of substrate
- 5x10⁵ spore/g of substrate
- ◆ 10⁶ spore/g of substrate
- 5x10⁶ spore/g of substrate

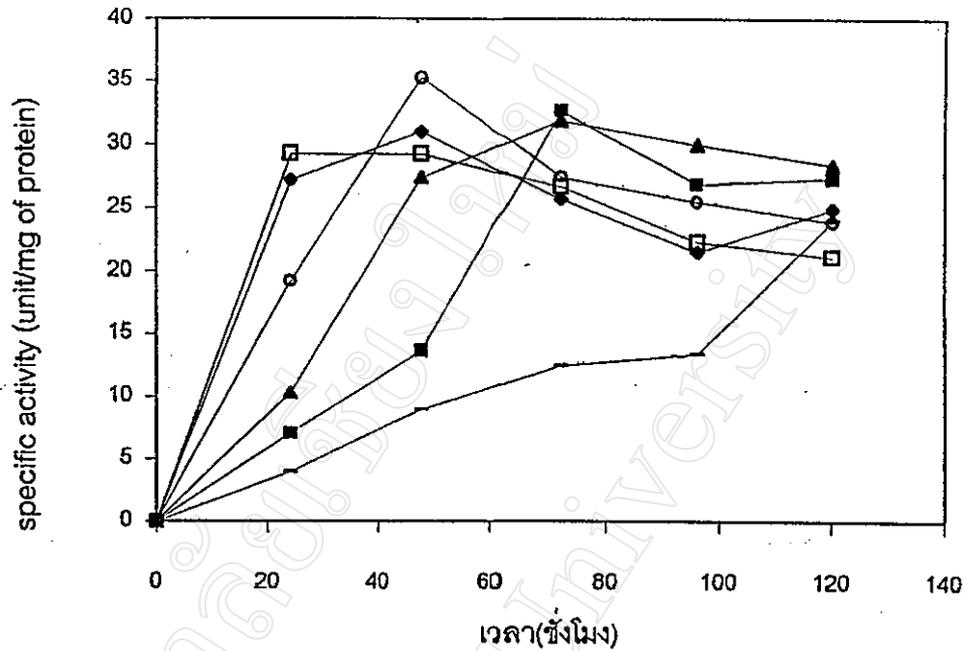
จากกราฟในรูป 3.32 แสดงความสามารถของเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ในการผลิตเอนไซม์ cellulase ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นต่างๆกันพบว่า ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นตั้งแต่ 5x10⁴ จนถึง 5x10⁶ สปอร์ต่อกรัมของอาหาร เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์สูงสุดได้ในปริมาณใกล้เคียงกัน คือ ประมาณ 2.99 ถึง 3.11 หน่วยต่อกรัมของกากมันฝรั่ง เพียงแต่ใช้เวลาในการผลิตแตกต่างกัน



รูป 3.33 แสดงปริมาณโปรตีนในสารละลายเอนไซม์ cellulase โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นต่างๆ

- 10^4 spore/g of substrate
- \square 5×10^4 spore/g of substrate
- \triangle 10^5 spore/g of substrate
- \circ 5×10^5 spore/g of substrate
- \diamond 10^6 spore/g of substrate
- \square 5×10^6 spore/g of substrate

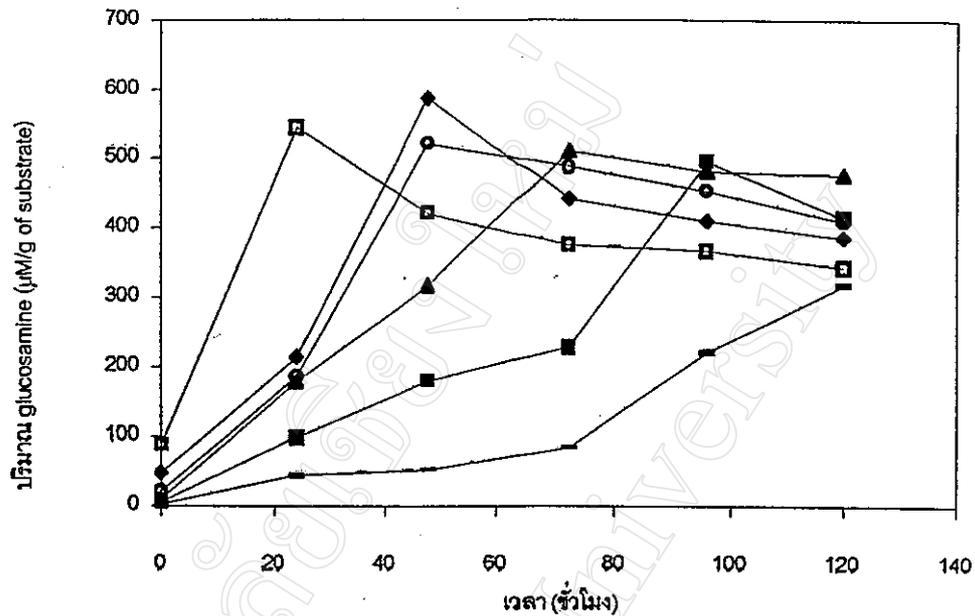
จากกราฟในรูป 3.33 แสดงปริมาณโปรตีนในสารละลายเอนไซม์ cellulase พบว่า ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นตั้งแต่ 10^4 และ 5×10^4 ปริมาณโปรตีนจะลดลงในวันที่สอง และจะมีปริมาณเพิ่มสูงขึ้นจนถึงวันที่ห้าของการเพาะเลี้ยง ส่วนที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นอื่นจะมีปริมาณเพิ่มสูงขึ้นตั้งแต่วันแรกจนกระทั่งวันที่ห้าของการเพาะเลี้ยง



รูป 3.34 แสดง specific activity ของเอนไซม์ cellulase โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ที่ ปริมาณเชื้อตั้งต้นต่างๆ

- 10⁴ spore/g of substrate
- 5x10⁴ spore/g of substrate
- ▲ 10⁵ spore/g of substrate
- 5x10⁵ spore/g of substrate
- ◆ 10⁶ spore/g of substrate
- 5x10⁶ spore/g of substrate

จากกราฟในรูป 3.34 แสดงความสามารถของเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ในการผลิตเอนไซม์ cellulase ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นต่างๆกันพบว่า ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นตั้งแต่ 5x10⁴ จนถึง 5x10⁶ สปอร์ต่อกรัมของอาหาร เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์สูงสุดได้ในปริมาณใกล้เคียงกัน คือ ประมาณ 29.36 ถึง 35.33 หน่วยต่อมิลลิกรัมโปรตีน เพียงแต่ใช้เวลาแตกต่างกัน ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้น 5x10⁴ และ 10⁵ เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์สูงสุดได้ 32.70 และ 31.91 หน่วยต่อมิลลิกรัมโปรตีน โดยใช้เวลาในการผลิตสูงสุด 3 วัน ที่ 5x10⁵ 10⁶ และ 5x10⁶ เชื้อผลิตเอนไซม์สูงสุดได้ 35.33, 31.08 และ 29.36 หน่วยต่อมิลลิกรัมโปรตีน โดยใช้เวลาในการผลิตสูงสุดเพียง 2 วัน



รูป 3.35 แสดงปริมาณ glucosamine โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นต่างๆ

- 10^4 spore/g of substrate
- 5×10^4 spore/g of substrate
- ▲— 10^5 spore/g of substrate
- 5×10^5 spore/g of substrate
- ◆— 10^6 spore/g of substrate
- 5×10^6 spore/g of substrate

จากกราฟในรูป 3.35 แสดงความสามารถของเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ในการเจริญบนกากมันสำปะรดที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นตั้งแต่ 10^4 ถึง 5×10^6 สปอร์ต่อกรัมของอาหาร พบว่า ที่ 10^4 สปอร์ต่อกรัมของอาหาร สามารถวัดได้สูงสุด 318.70 ไมโครโมลต่อกรัมของอาหารในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง ที่ 5×10^4 สามารถวัดได้สูงสุด 496.80 ไมโครโมลต่อกรัมของอาหารในวันที่ 4 ของการเพาะเลี้ยง ที่ 10^5 , 5×10^5 และ 10^6 สามารถวัดได้สูงสุด 511.40, 522.30 และ 586.90 ไมโครโมลต่อกรัมของอาหารในวันที่ 3 ของการเพาะเลี้ยง ส่วนที่ 5×10^6 สปอร์ต่อกรัมของอาหาร สามารถผลิตได้สูงสุด 496.80 ไมโครโมลต่อกรัมของอาหารในวันที่ 2 ของการเพาะเลี้ยง

ตาราง 3.3 แสดงแอกติวิตีของเอนไซม์ที่ผลิตโดยเชื้อ *Aspergillus spp.* ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นต่างๆ

ปริมาณเชื้อตั้งต้น วันที่	กลูตามิเนส (unit/g of mustard meal)	อะไมเลส (unit/g of mustard meal)	โปรติเอส (unit/g of mustard meal)	เซลลูเลส (unit/g of mustard meal)
10^4 (spore/g of mustard meal)				
1	1.62	1.69	474	0.57
2	1.11	1.28	501	0.40
3	3.14	14.77	669	0.81
4	5.40	14.44	1354	0.88
5	6.84	14.58	1322	1.57
5×10^4 (spore/g of mustard meal)				
1	1.80	0.94	374	0.99
2	3.72	9.97	451	0.86
3	4.41	13.19	496	2.54
4	9.96	13.40	1332	2.77
5	9.45	13.97	1135	2.99
10^5 (spore/g of mustard meal)				
1	1.07	0.74	137	0.84
2	2.46	7.71	311	1.54
3	9.85	14.68	1254	2.48
4	8.36	14.92	1194	2.90
5	4.70	15.64	936	3.19
5×10^5 (spore/g of mustard meal)				
1	0.90	0.83	149	1.50
2	9.30	18.46	1236	2.76
3	7.72	14.23	1342	2.82
4	5.34	14.93	991	2.86
5	3.63	14.37	955	3.13

ตาราง 3.3 (ต่อ)

ปริมาณเชื้อตั้งต้น วันที่	กลูตามิเนส (unit/g of mustard meal)	อะไมเลส (unit/g of mustard meal)	โปรติเอส (unit/g of mustard meal)	เซลลูเลส (unit/g of mustard meal)
10^6 (spore/g of mustard meal)				
1	1.76	1.08	245	1.70
2	9.98	16.63	1190	3.00
3	4.75	14.59	1007	3.14
4	4.09	14.08	813	3.02
5	4.09	11.95	715	2.95
5×10^6 (spore/g of mustard meal)				
1	2.50	0.22	23	1.46
2	9.46	17.70	1200	3.11
3	9.38	2.22	983	3.00
4	3.09	2.17	836	2.79
5	3.15	1.22	466	2.83

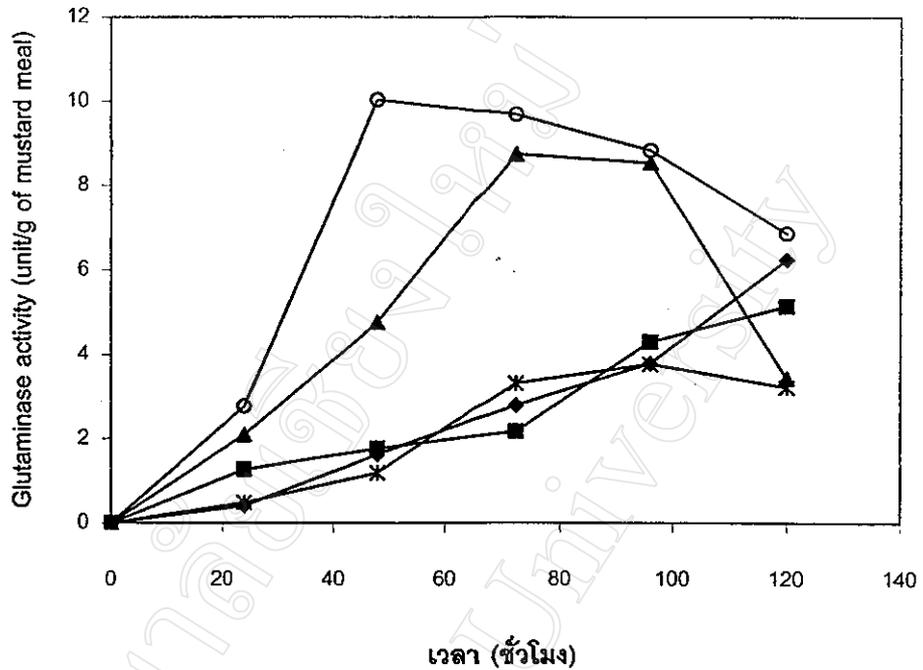
จากการศึกษาการเจริญและการผลิตเอนไซม์ของเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ในการเลี้ยงบนกากมัสตาร์ดในสภาพอาหารแข็ง ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นต่างๆกันพบว่า ปริมาณเชื้อตั้งต้นไม่มีผลต่อความสามารถในการเจริญและปริมาณเอนไซม์ที่ผลิตของเชื้อ แต่มีผลต่อช่วงเวลาในการเจริญและผลิตเอนไซม์ของเชื้อ ดังนั้นเพื่อให้เวลาในการเจริญและผลิตเอนไซม์ของเชื้อ เหมาะสมต่อการทดลอง จึงเลือกใช้ปริมาณเชื้อตั้งต้น 10^6 สปอร์ต่อกรัมของอาหารในการทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตเอนไซม์ของเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ต่อไป

3.3 ผลการศึกษาการเจริญและการผลิตเอนไซม์ของเชื้อ *Aspergillus* สายพันธุ์ต่าง ๆ บนอาหารแข็งของกากมันฝรั่ง ที่ความชื้นเริ่มต้นต่าง ๆ

3.3.1 ผลการศึกษาการเจริญและการผลิตเอนไซม์ของเชื้อ *Aspergillus* spp.3 บนอาหารแข็งของกากมันฝรั่ง ที่ความชื้นเริ่มต้นต่าง ๆ

การศึกษาการเจริญและการผลิตเอนไซม์ของเชื้อ *Aspergillus* spp.3 บนอาหารแข็งของกากมันฝรั่ง ที่ความชื้นเริ่มต้นต่าง ๆ เป็นการทดลองเพื่อหาความชื้นเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต และผลิตเอนไซม์กลูตามิเนส อะไมเลส โปรติเอส และเซลลูเลส ให้ได้ในปริมาณสูงสุด

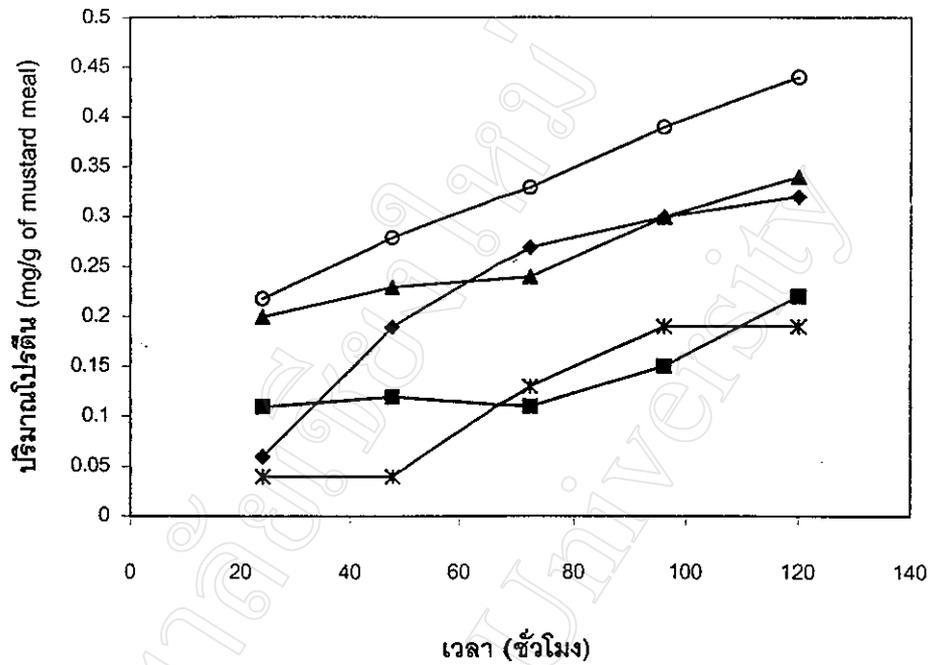
ในการทดลองได้ชั่งกากมันฝรั่ง 10.0 กรัม ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร จำนวน 25 ใบ จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที ทำการถ่ายเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ในปริมาณ 10^7 สปอร์ ลงในกากมันฝรั่งที่ฆ่าเชื้อแล้ว แล้วปรับความชื้นโดยเติมน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วลงไป 4, 7, 10, 16 และ 23 มิลลิลิตร ในปริมาณความชื้นเริ่มต้นละ 5 ใบ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 29 องศาเซลเซียส ทำการเขย่าด้วยมือวันละ 3 ครั้ง และสกัดเอนไซม์ในแต่ละปริมาณความชื้นเริ่มต้น ความชื้นเริ่มต้นละ 1 ใบ ทุก 24 ชั่วโมงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง



รูป 3.36 แสดงแอกติวิตีของเอนไซม์ glutaminase โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ที่ความชื้นเริ่มต้นต่างๆ

- ◆ ความชื้นเริ่มต้น 38 เปอร์เซ็นต์
- ความชื้นเริ่มต้น 49 เปอร์เซ็นต์
- ▲ ความชื้นเริ่มต้น 58 เปอร์เซ็นต์
- ความชื้นเริ่มต้น 66 เปอร์เซ็นต์
- ✱ ความชื้นเริ่มต้น 74 เปอร์เซ็นต์

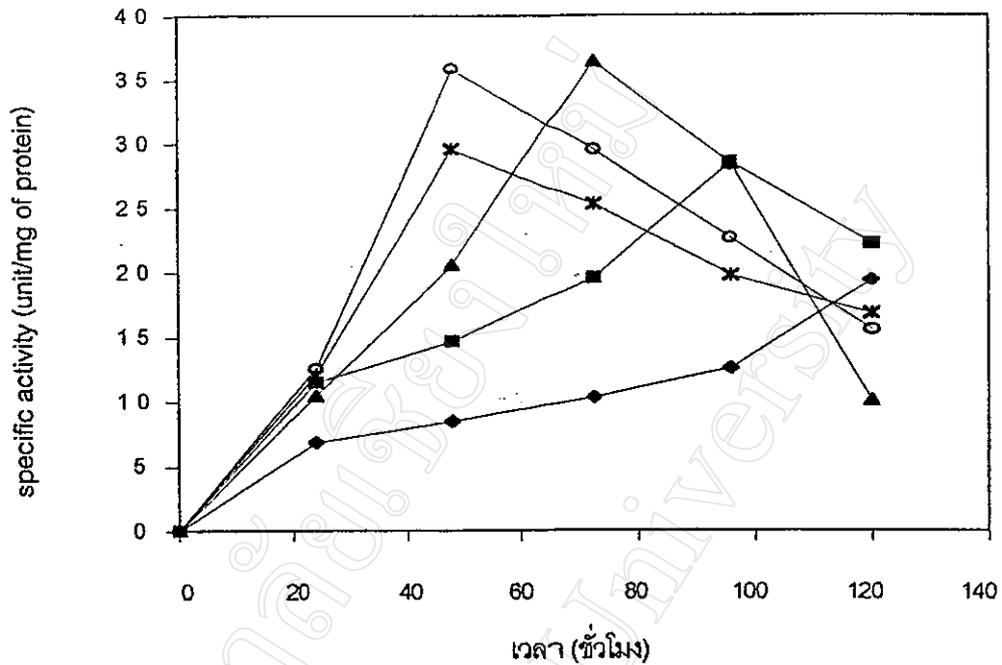
จากกราฟในรูป 3.36 แสดงความสามารถของเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ในการผลิตเอนไซม์ glutaminase ที่ปริมาณความชื้นเริ่มต้นต่างๆพบว่าที่ความชื้นเริ่มต้น 66 เปอร์เซ็นต์ เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์ glutaminase ได้สูงสุด 10.05 ยูนิตต่อกรัมของกากมันฝรั่ง รองลงมาคือที่ความชื้นเริ่มต้น 58 เปอร์เซ็นต์ เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์ glutaminase ได้สูงสุด 8.76 ยูนิตต่อกรัมของกากมันฝรั่ง



รูป 3.37 แสดงปริมาณโปรตีนในสารละลายเอนไซม์ glutaminase และ amylase โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ที่ความชื้นเริ่มต้นต่างๆ

- ◆ ความชื้นเริ่มต้น 38 เปอร์เซ็นต์
- ความชื้นเริ่มต้น 49 เปอร์เซ็นต์
- ▲ ความชื้นเริ่มต้น 58 เปอร์เซ็นต์
- ความชื้นเริ่มต้น 66 เปอร์เซ็นต์
- ✱ ความชื้นเริ่มต้น 74 เปอร์เซ็นต์

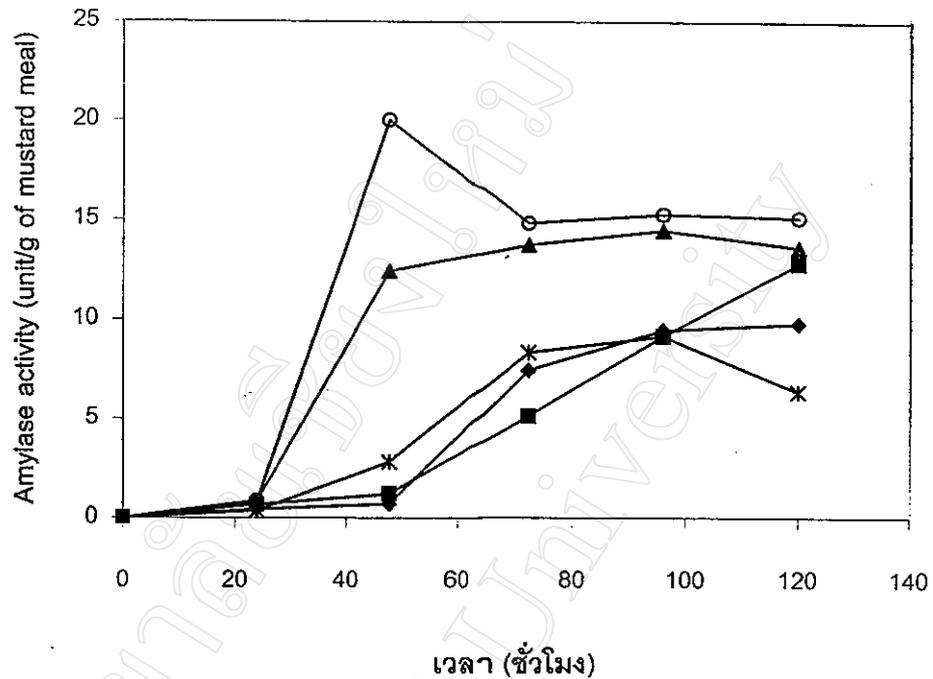
จากกราฟในรูป 3.37 แสดงปริมาณโปรตีนในสารละลายเอนไซม์ glutaminase, และ amylase พบว่า ปริมาณโปรตีนในแต่ละความชื้นเริ่มต้นจะมีปริมาณเพิ่มสูงขึ้นจนถึงวันที่ทำการเพาะเลี้ยง



รูป 3.38 แสดง specific activity ของเอนไซม์ glutaminase โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ที่ความชื้นเริ่มต้นต่างๆ

- ◆ ความชื้นเริ่มต้น 38 เปอร์เซ็นต์
- ความชื้นเริ่มต้น 49 เปอร์เซ็นต์
- ▲ ความชื้นเริ่มต้น 58 เปอร์เซ็นต์
- ความชื้นเริ่มต้น 66 เปอร์เซ็นต์
- ✕ ความชื้นเริ่มต้น 74 เปอร์เซ็นต์

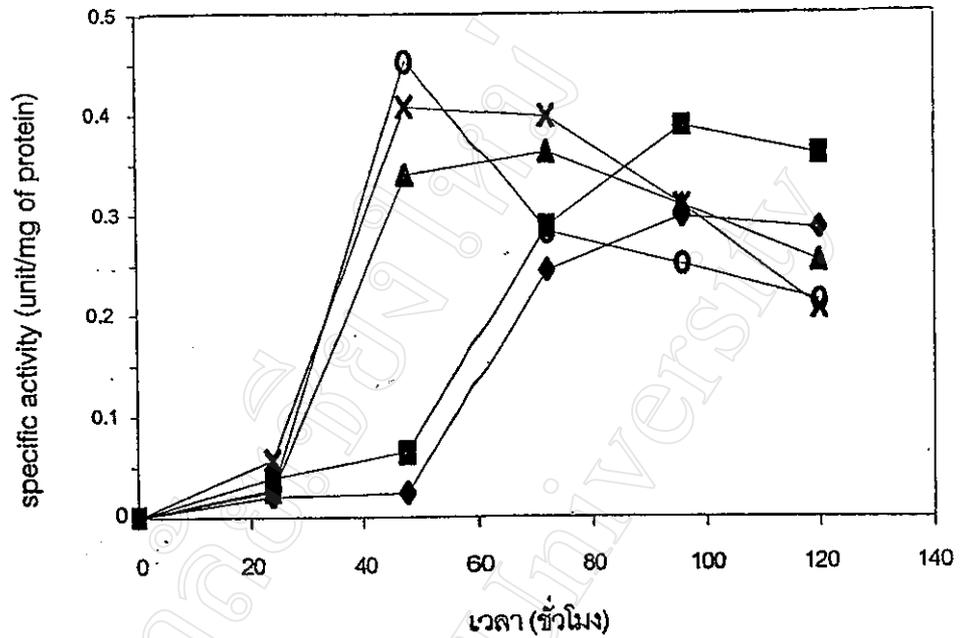
จากกราฟในรูป 3.38 แสดงความสามารถของเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ในการผลิตเอนไซม์ glutaminase ที่ปริมาณความชื้นเริ่มต้นต่างๆพบว่าที่ความชื้นเริ่มต้น 58 เปอร์เซ็นต์ เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์ glutaminase ได้สูงสุด 36.50 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน ในเวลาการเพาะเลี้ยง 3 วัน รองลงมาคือที่ความชื้นเริ่มต้น 66 เปอร์เซ็นต์ เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์ glutaminase ได้สูงสุด 35.90 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน ในเวลาการเพาะเลี้ยง 2 วัน



รูป 3.39 แสดงแอกติวิตีของเอนไซม์ amylase โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ที่ความชื้นเริ่มต้นต่างๆ

- ◆ ความชื้นเริ่มต้น 38 เปอร์เซ็นต์
- ความชื้นเริ่มต้น 49 เปอร์เซ็นต์
- ▲ ความชื้นเริ่มต้น 58 เปอร์เซ็นต์
- ความชื้นเริ่มต้น 66 เปอร์เซ็นต์
- ✱ ความชื้นเริ่มต้น 74 เปอร์เซ็นต์

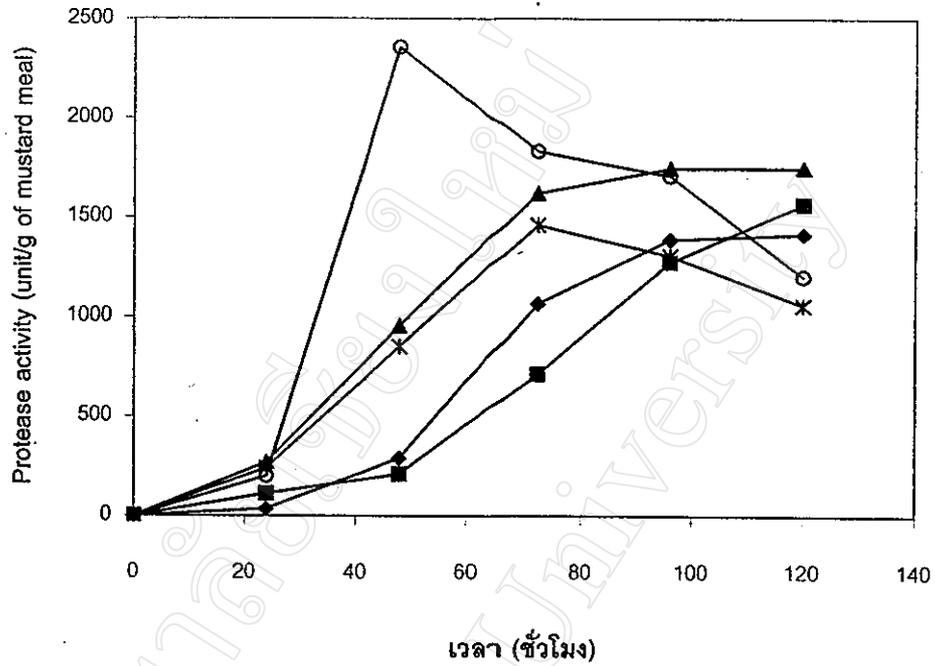
จากกราฟในรูป 3.39 แสดงความสามารถของเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ในการผลิตเอนไซม์ amylase ที่ปริมาณความชื้นเริ่มต้นต่างๆพบว่าที่ความชื้นเริ่มต้น 66 เปอร์เซ็นต์ เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์ amylase ได้สูงสุด 20.0 ยูนิตต่อกรัมของกากมันฝรั่ง ในเวลาการเพาะเลี้ยง 2 วัน รองลงมาคือที่ความชื้นเริ่มต้น 58, 49, 38 และ 74 เปอร์เซ็นต์ ในปริมาณ 14.40, 12.70, 9.40 และ 9.10 ยูนิตต่อกรัมของกากมันฝรั่ง ตามลำดับ



รูป 3.40 แสดง specific activity ของเอนไซม์ amylase โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นต่างๆ

- ◆ ความเข้มข้นเริ่มต้น 38 เปอร์เซ็นต์
- ความเข้มข้นเริ่มต้น 49 เปอร์เซ็นต์
- ▲ ความเข้มข้นเริ่มต้น 58 เปอร์เซ็นต์
- ความเข้มข้นเริ่มต้น 66 เปอร์เซ็นต์
- ✕ ความเข้มข้นเริ่มต้น 74 เปอร์เซ็นต์

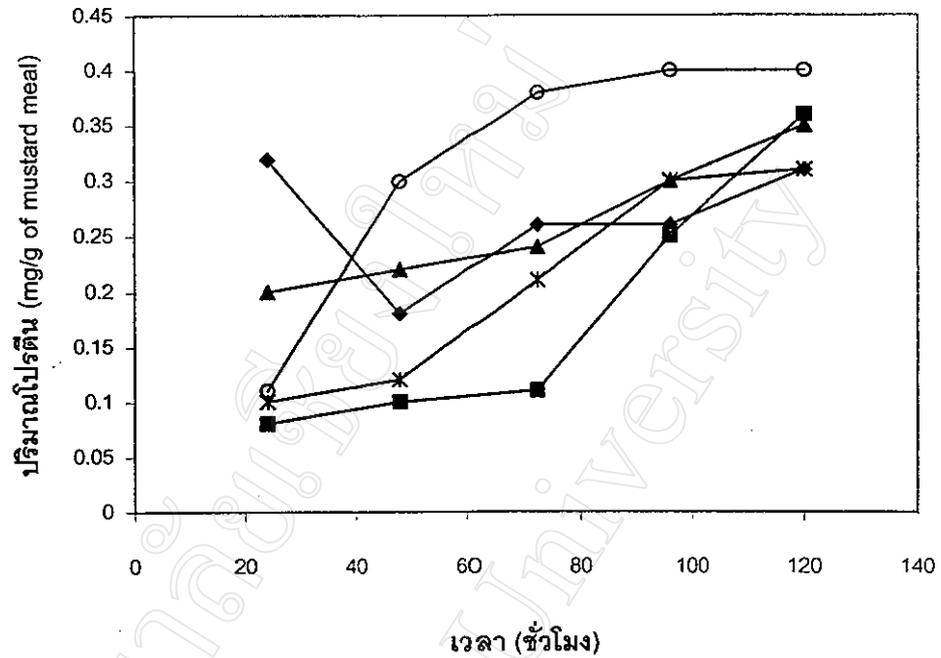
จากกราฟในรูป 3.40 แสดงความสามารถของเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ในการผลิตเอนไซม์ amylase ที่ปริมาณความเข้มข้นเริ่มต้นต่างๆพบว่าที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 66 เปอร์เซ็นต์ เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์ amylase ได้สูงสุด 0.45 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน ในเวลาการเพาะเลี้ยง 2 วัน รองลงมาคือที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 74, 49, 58 และ 38 เปอร์เซ็นต์ ในปริมาณ 0.41, 0.39, 0.36 และ 0.30 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน ตามลำดับ



รูป 3.41 แสดงแอกติวิตีของเอนไซม์ protease โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ที่ความชื้นเริ่มต้นต่างๆ

- ◆ ความชื้นเริ่มต้น 38 เปอร์เซ็นต์
- ความชื้นเริ่มต้น 49 เปอร์เซ็นต์
- ▲ ความชื้นเริ่มต้น 58 เปอร์เซ็นต์
- ความชื้นเริ่มต้น 66 เปอร์เซ็นต์
- × ความชื้นเริ่มต้น 74 เปอร์เซ็นต์

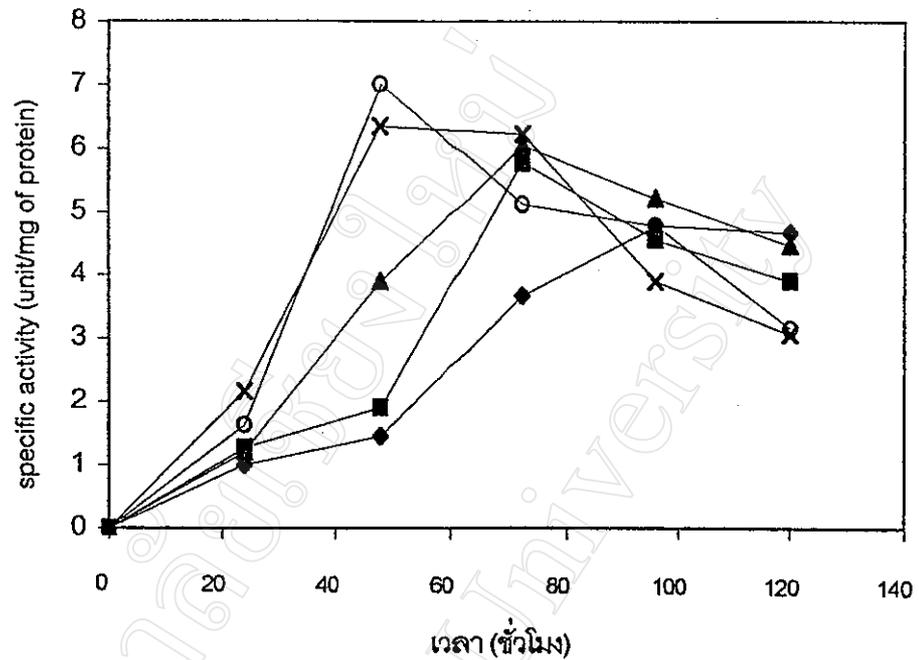
จากกราฟในรูป 3.41 แสดงความสามารถของเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ในการผลิตเอนไซม์ protease ที่ปริมาณความชื้นเริ่มต้นต่างๆพบว่าที่ความชื้นเริ่มต้น 66 เปอร์เซ็นต์ เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์ protease ได้สูงสุด 2356 ยูนิตต่อกรัมของกากมันฝรั่ง ในเวลาการเพาะเลี้ยง 2 วัน รองลงมาคือที่ความชื้นเริ่มต้น 58, 49, 74 และ 38 เปอร์เซ็นต์ในปริมาณ 1749, 1567, 1464 และ 1415 ยูนิตต่อกรัมของกากมันฝรั่ง ตามลำดับ



รูป 3.42 แสดงปริมาณโปรตีนในสารละลายเอนไซม์ protease โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ที่ความชื้นเริ่มต้นต่างๆ

- ◆ ความชื้นเริ่มต้น 38 เปอร์เซ็นต์
- ความชื้นเริ่มต้น 49 เปอร์เซ็นต์
- ▲ ความชื้นเริ่มต้น 58 เปอร์เซ็นต์
- ความชื้นเริ่มต้น 66 เปอร์เซ็นต์
- × ความชื้นเริ่มต้น 74 เปอร์เซ็นต์

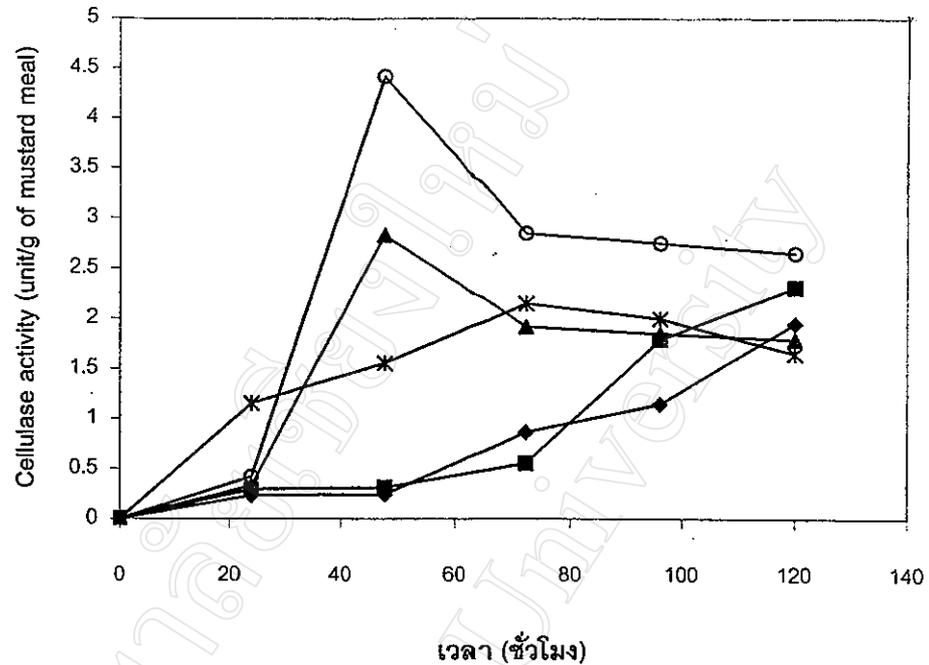
จากกราฟในรูป 3.42 แสดงปริมาณโปรตีนในสารละลายเอนไซม์ protease พบว่า ปริมาณโปรตีนในแต่ละความชื้นเริ่มต้นจะมีปริมาณเพิ่มสูงขึ้นจนถึงวันที่ทำการเพาะเลี้ยง ยกเว้นในความชื้นเริ่มต้น 38 เปอร์เซ็นต์



รูป 3.43 แสดง specific activity ของเอนไซม์ protease โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นต่างๆ

- ◆— ความเข้มข้นเริ่มต้น 38 เปอร์เซ็นต์
- ความเข้มข้นเริ่มต้น 49 เปอร์เซ็นต์
- ▲— ความเข้มข้นเริ่มต้น 58 เปอร์เซ็นต์
- ความเข้มข้นเริ่มต้น 66 เปอร์เซ็นต์
- ✕— ความเข้มข้นเริ่มต้น 74 เปอร์เซ็นต์

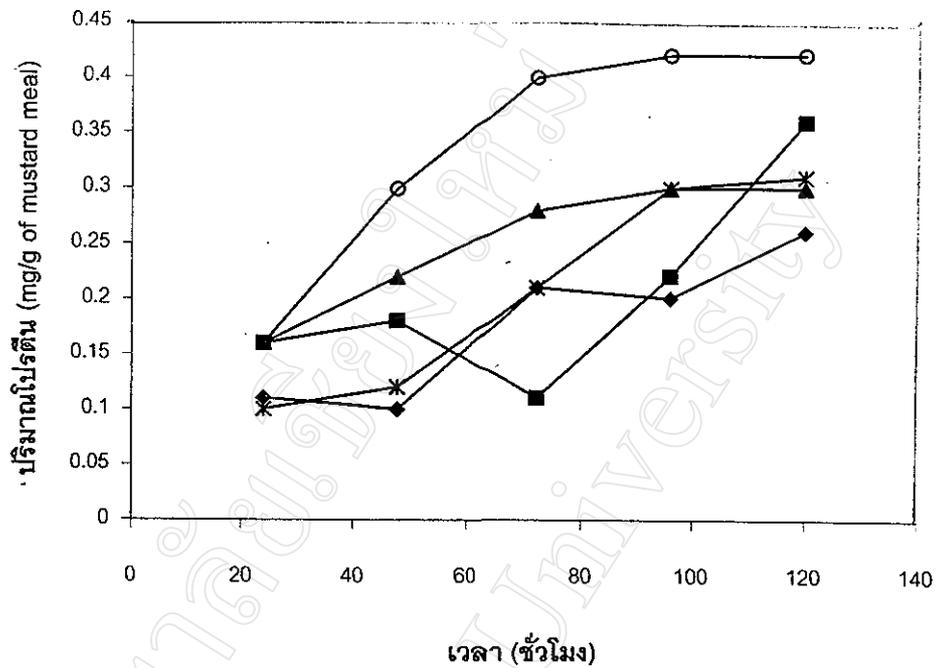
จากกราฟในรูป 3.43 แสดงความสามารถของเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ในการผลิตเอนไซม์ protease ที่ปริมาณความเข้มข้นเริ่มต้นต่างๆพบว่าที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 66 เปอร์เซ็นต์ เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์ protease ได้สูงสุด 7.020 หน่วยต่อมิลลิกรัมโปรตีน ในเวลาการเพาะเลี้ยง 2 วัน รองลงมาคือที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 74, 58, 49 และ 38 เปอร์เซ็นต์ ในปริมาณ 6.358, 6.052, 5.779 และ 4.776 หน่วยต่อมิลลิกรัมโปรตีน ตามลำดับ



รูป 3.44 แสดงแอกติวิตีของเอนไซม์ cellulase โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ที่ความชื้นเริ่มต้นต่าง ๆ

- ◆ ความชื้นเริ่มต้น 38 เปอร์เซ็นต์
- ความชื้นเริ่มต้น 49 เปอร์เซ็นต์
- ▲ ความชื้นเริ่มต้น 58 เปอร์เซ็นต์
- ความชื้นเริ่มต้น 66 เปอร์เซ็นต์
- × ความชื้นเริ่มต้น 74 เปอร์เซ็นต์

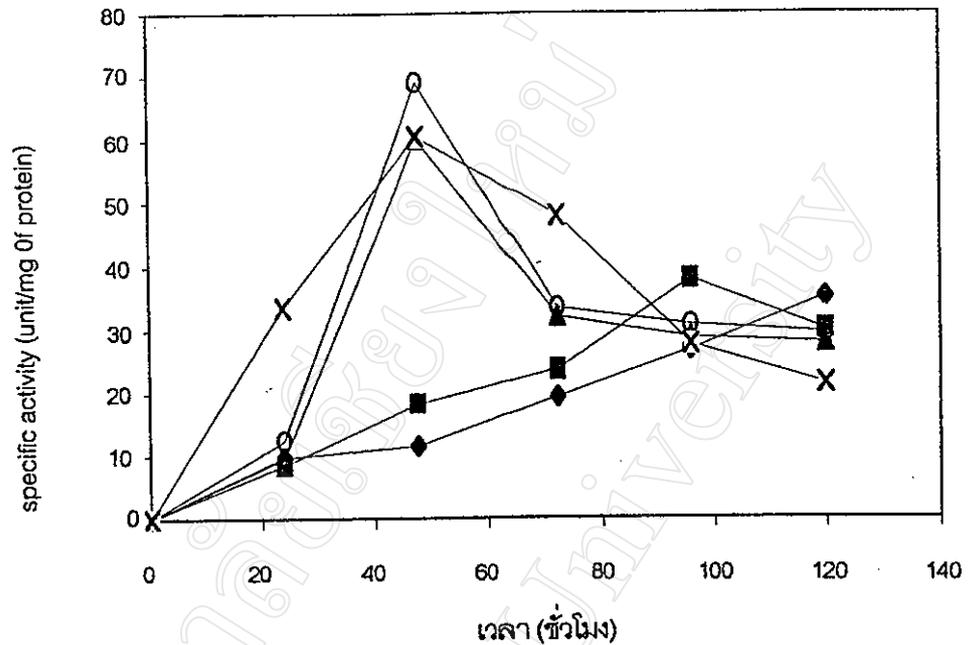
จากกราฟในรูป 3.44 แสดงความสามารถของเชื้อ *Aspergillus* ssp.3 ในการผลิตเอนไซม์ cellulase ที่ปริมาณความชื้นเริ่มต้นต่างๆพบว่าที่ความชื้นเริ่มต้น 66 เปอร์เซ็นต์ เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์ cellulase ได้สูงสุด 4.42 ยูนิตต่อกรัมของกากมันฝรั่ง ในเวลาการเพาะเลี้ยง 2 วัน รองลงมาคือที่ความชื้นเริ่มต้น 58, 74, 49 และ 38 เปอร์เซ็นต์ ในปริมาณ 2.83, 2.30, 2.14 และ 1.94 ยูนิตต่อกรัมของกากมันฝรั่ง ตามลำดับ



รูป 3.45 แสดงปริมาณโปรตีนในสารละลายเอนไซม์ cellulase โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ที่ความชื้นเริ่มต้นต่างๆ

- ◆ ความชื้นเริ่มต้น 38 เปอร์เซ็นต์
- ความชื้นเริ่มต้น 49 เปอร์เซ็นต์
- ▲ ความชื้นเริ่มต้น 58 เปอร์เซ็นต์
- ความชื้นเริ่มต้น 66 เปอร์เซ็นต์
- × ความชื้นเริ่มต้น 74 เปอร์เซ็นต์

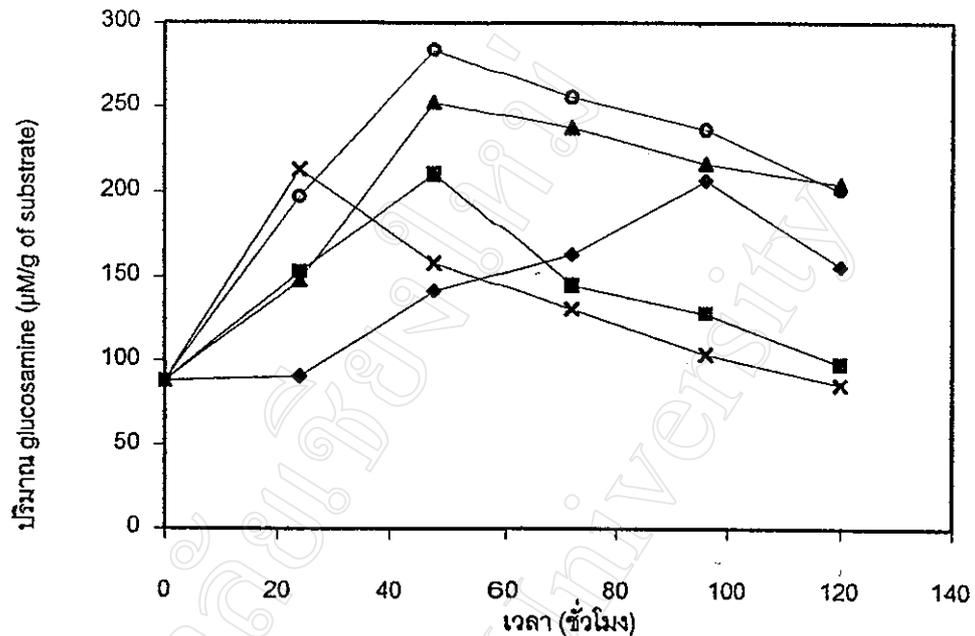
จากกราฟในรูป 3.45 แสดงปริมาณโปรตีนในสารละลายเอนไซม์ cellulase พบว่า ปริมาณโปรตีนในแต่ละความชื้นเริ่มต้นจะมีปริมาณเพิ่มสูงขึ้นจนถึงวันที่ห้าในการเพาะเลี้ยง ยกเว้นในความชื้นเริ่มต้น 38 เปอร์เซ็นต์



รูป 3.46 แสดง specific activity ของเอนไซม์ cellulase โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ที่ความชื้นเริ่มต้นต่างๆ

- ◆— ความชื้นเริ่มต้น 38 เปอร์เซ็นต์
- ความชื้นเริ่มต้น 49 เปอร์เซ็นต์
- ▲— ความชื้นเริ่มต้น 58 เปอร์เซ็นต์
- ความชื้นเริ่มต้น 66 เปอร์เซ็นต์
- *— ความชื้นเริ่มต้น 74 เปอร์เซ็นต์

จากกราฟในรูป 3.46 แสดงความสามารถของเชื้อ *Aspergillus* ssp.3 ในการผลิตเอนไซม์ cellulase ที่ปริมาณความชื้นเริ่มต้นต่างๆพบว่าที่ความชื้นเริ่มต้น 66 เปอร์เซ็นต์ เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์ cellulase ได้สูงสุด 69.14 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน ในเวลาการเพาะเลี้ยง 2 วัน รองลงมาคือที่ความชื้นเริ่มต้น 74, 58, 49 และ 38 เปอร์เซ็นต์ ในปริมาณ 60.68, 60.29, 37.93 และ 35.03 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน ตามลำดับ



รูป 3.47 แสดงปริมาณ glucosamine โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ที่ความชื้นเริ่มต้นต่างๆ

- ◆ ความชื้นเริ่มต้น 38 เปอร์เซ็นต์
- ความชื้นเริ่มต้น 49 เปอร์เซ็นต์
- ▲ ความชื้นเริ่มต้น 58 เปอร์เซ็นต์
- ความชื้นเริ่มต้น 66 เปอร์เซ็นต์
- ✕ ความชื้นเริ่มต้น 74 เปอร์เซ็นต์

จากกราฟในรูป 3.47 แสดงความสามารถของเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ในการเจริญบนกากมันฝรั่งที่ปริมาณความชื้นเริ่มต้นต่างๆพบว่า ที่ความชื้นเริ่มต้น 66 เปอร์เซ็นต์ สามารถวัดปริมาณกลูโคซามีน ได้สูงสุด 284 ไมโครโมลต่อกรัมของอาหารในวันที่ 2 ของการเพาะเลี้ยง รองลงมาคือที่ความชื้นเริ่มต้น 58, 74, 49 และ 38 เปอร์เซ็นต์ ในปริมาณ 253, 213, 211 และ 207 ไมโครโมลต่อกรัมของอาหารตามลำดับ

ตาราง 3.4 แสดงแอกติวิตีของเอนไซม์ที่ผลิตโดยเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ที่ความชื้นเริ่มต้น
ต่างๆ

ความชื้นเริ่มต้น (%) วันที่	กลูตามิเนส (unit/g of mustard meal)	อะไมเลส (unit/g of mustard meal)	โปรติเอส (unit/g of mustard meal)	เซลลูเลส (unit/g of mustard meal)
38				
1	0.41	0.43	36	0.23
2	1.62	0.69	292	0.24
3	2.78	7.4	1067	0.86
4	3.78	9.4	1390	1.14
5	6.24	9.7	1415	1.94
49				
1	1.27	0.66	714	0.29
2	1.76	1.2	211	0.31
3	2.16	5.1	711	0.55
4	4.29	9.1	1275	1.78
5	5.13	12.7	1567	2.30
58				
1	2.10	0.83	271	0.33
2	4.76	12.4	959	2.83
3	8.76	13.7	1624	1.91
4	8.55	14.4	1749	1.84
5	3.43	13.5	1750	1.78
66				
1	2.77	0.86	201	0.42
2	10.05	20.0	2356	4.42
3	9.70	14.8	2180	2.84
4	8.85	15.2	2139	2.74
5	6.86	15.0	1414	2.64

ตาราง 3.4 (ต่อ)

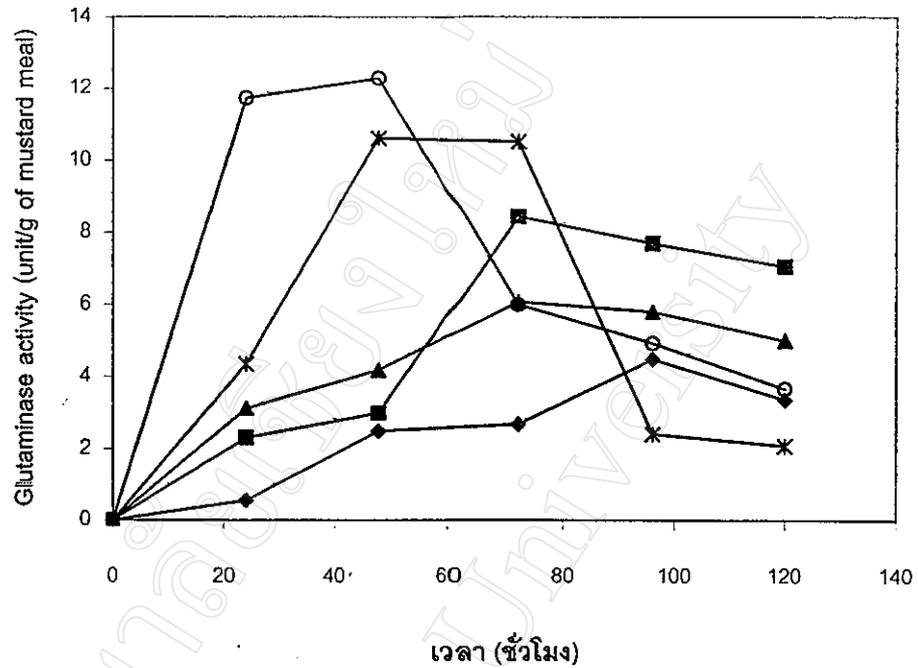
ความชื้นเริ่มต้น (%) วันที่	กลูตามิเนต (unit/g of mustard meal)	อะไมเลส (unit/g of mustard meal)	โปรติเอส (unit/g of mustard meal)	เซลลูเลส (unit/g of mustard meal)
74				
1	0.48	0.36	242	1.15
2	1.19	2.8	854	1.55
3	3.30	8.3	1464	2.14
4	3.76	9.1	1309	1.99
5	3.21	6.3	1058	1.64

จากการศึกษาการเจริญและการผลิตเอนไซม์ของเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ในการเลี้ยงบนกากมันต์คาร์ดในสภาพอาหารแห้ง ที่ปริมาณความชื้นเริ่มต้นต่างๆกัน พบว่า ที่ปริมาณความชื้นเริ่มต้น 66 เปอร์เซ็นต์ เชื้อ *Aspergillus* spp.3 สามารถเจริญและผลิตเอนไซม์กลูตามิเนต อะไมเลส โปรติเอส และเซลลูเลส ได้ในปริมาณสูงสุด ดังนั้นจึงเลือกใช้ปริมาณความชื้นเริ่มต้น 66 เปอร์เซ็นต์ ในการทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตเอนไซม์ของเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ต่อไป

3.3.2 ผลการศึกษาการเจริญและการผลิตเอนไซม์ของเชื้อ *Aspergillus* spp.4 บนอาหารแข็งของกากมันฝรั่ง ที่ความชื้นเริ่มต้นต่างๆ

การศึกษาการเจริญและการผลิตเอนไซม์ของเชื้อ *Aspergillus* spp.4 บนอาหารแข็งของกากมันฝรั่ง ที่ความชื้นเริ่มต้นต่างๆ เป็นการทดลองเพื่อหาความชื้นเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต และผลิตเอนไซม์กลูตามิเนส อะไมเลส โปรติเอส และเซลลูเลส ให้ได้ในปริมาณสูงสุด

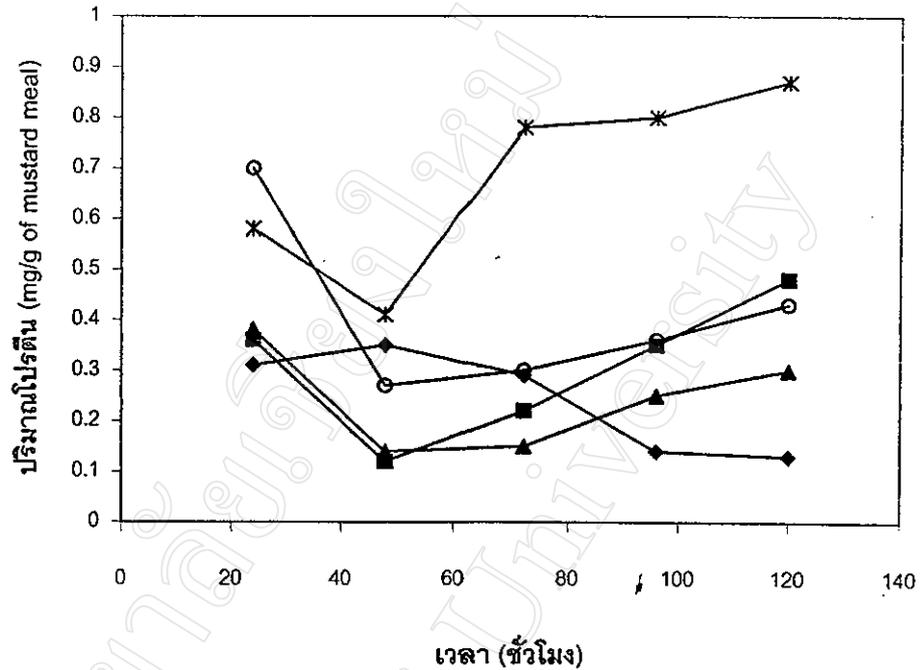
ในการทดลองได้ชั่งกากมันฝรั่ง 10.0 กรัม ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร จำนวน 25 ใบ จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที ทำการถ่ายเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ในปริมาณ 10^7 สปอร์ ลงในกากมันฝรั่งที่ฆ่าเชื้อแล้ว ปรับความชื้นโดยเติมน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วลงไป 4, 7, 10, 16 และ 23 มิลลิลิตร ในปริมาณความชื้นเริ่มต้นละ 5 ใบ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 29 องศาเซลเซียส ทำการเขย่าด้วยมือวันละ 3 ครั้ง และสกัดเอนไซม์ในแต่ละปริมาณความชื้นเริ่มต้น ความชื้นเริ่มต้นละ 1 ใบ ทุก 24 ชั่วโมงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง



รูป 3.48 แสดงแอกติวิตีของเอนไซม์ glutaminase โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ที่ความชื้นเริ่มต้นต่างๆ

- ◆ ความชื้นเริ่มต้น 38 เปอร์เซ็นต์
- ความชื้นเริ่มต้น 49 เปอร์เซ็นต์
- ▲ ความชื้นเริ่มต้น 58 เปอร์เซ็นต์
- ความชื้นเริ่มต้น 66 เปอร์เซ็นต์
- × ความชื้นเริ่มต้น 74 เปอร์เซ็นต์

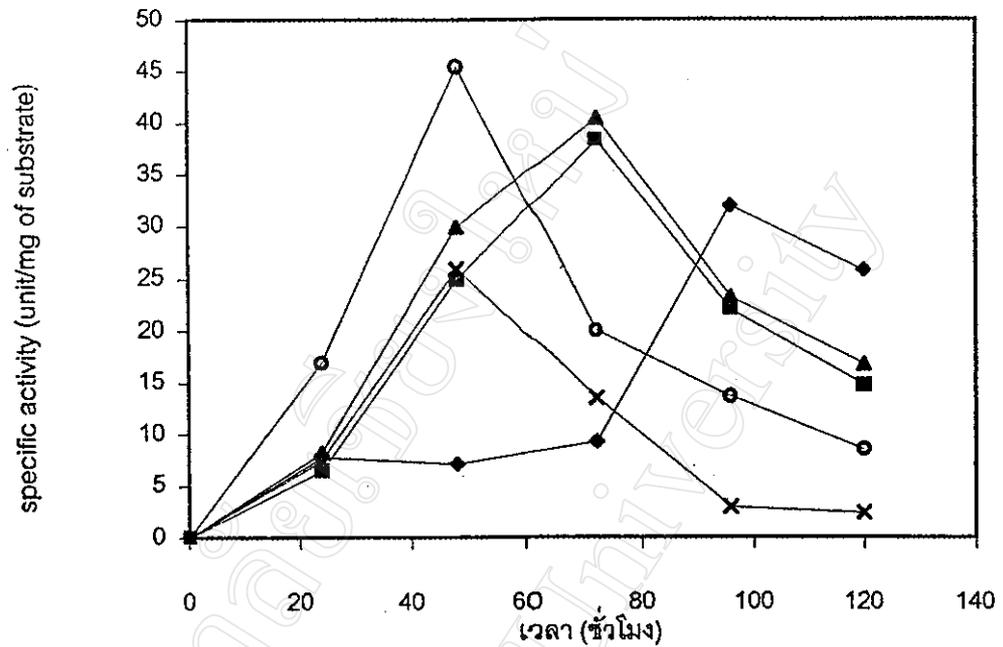
จากกราฟในรูป 3.48 แสดงความสามารถของเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ในการผลิตเอนไซม์ glutaminase ที่ปริมาณความชื้นเริ่มต้นต่างๆพบว่าที่ความชื้นเริ่มต้น 66 เปอร์เซ็นต์ เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์ glutaminase ได้สูงสุด 12.29 ยูนิตต่อกรัมของกากมันส์ตาร์ด ในเวลาการเพาะเลี้ยง 2 วัน รองลงมาคือที่ความชื้นเริ่มต้น 74, 49, 58 และ 38 เปอร์เซ็นต์ ในปริมาณ 10.62, 8.45, 6.08 และ 4.48 ยูนิตต่อกรัมของกากมันส์ตาร์ด ตามลำดับ



รูป 3.49 แสดงปริมาณโปรตีนในสารละลายเอนไซม์ glutaminase โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ที่ความชื้นเริ่มต้นต่างๆ

- ◆ ความชื้นเริ่มต้น 38 เปอร์เซ็นต์
- ความชื้นเริ่มต้น 49 เปอร์เซ็นต์
- ▲ ความชื้นเริ่มต้น 58 เปอร์เซ็นต์
- ความชื้นเริ่มต้น 66 เปอร์เซ็นต์
- × ความชื้นเริ่มต้น 74 เปอร์เซ็นต์

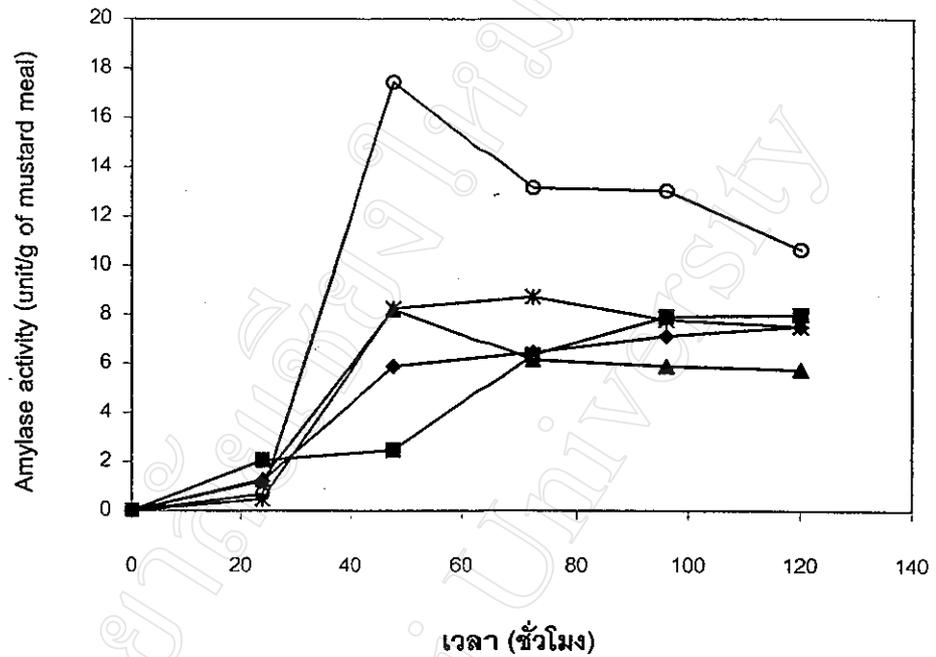
จากกราฟในรูป 3.49 แสดงปริมาณโปรตีนในสารละลายเอนไซม์ glutaminase พบว่า ปริมาณโปรตีนในแต่ละความชื้นเริ่มต้นจะลดลงในวันที่สองของการเพาะเลี้ยง และจะมีปริมาณเพิ่มสูงขึ้นจนถึงวันที่ห้าในการเพาะเลี้ยง ยกเว้นในความชื้นเริ่มต้น 38 เปอร์เซ็นต์



รูป 3.50 แสดง specific activity ของเอนไซม์ glutaminase โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ที่ความชื้นเริ่มต้นต่างๆ

- ◆— ความชื้นเริ่มต้น 38 เปอร์เซ็นต์
- ความชื้นเริ่มต้น 49 เปอร์เซ็นต์
- ▲— ความชื้นเริ่มต้น 58 เปอร์เซ็นต์
- ความชื้นเริ่มต้น 66 เปอร์เซ็นต์
- ×— ความชื้นเริ่มต้น 74 เปอร์เซ็นต์

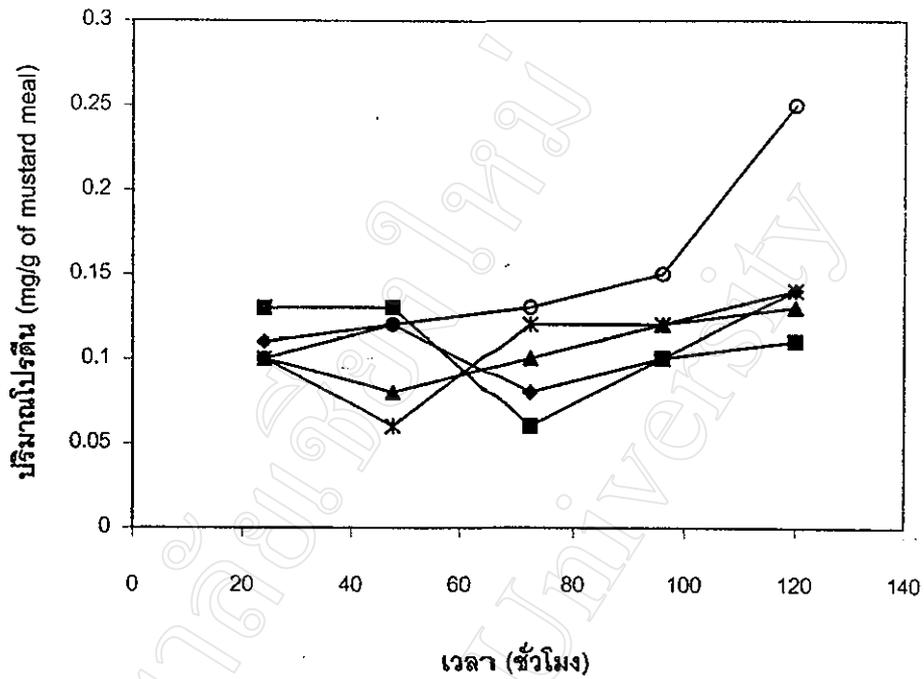
จากกราฟในรูป 3.50 แสดงความสามารถของเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ในการผลิตเอนไซม์ glutaminase ที่ปริมาณความชื้นเริ่มต้นต่างๆพบว่าที่ความชื้นเริ่มต้น 66 เปอร์เซ็นต์เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์ glutaminase ได้สูงสุด 45.5 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน ในเวลาการเพาะเลี้ยง 2 วัน รองลงมาคือที่ความชื้นเริ่มต้น 58, 49, 74 และ 38 เปอร์เซ็นต์ ในปริมาณ 40.50, 38.40, 25.90 และ 25.80 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน ตามลำดับ



รูป 3.51 แสดงแอกติวิตีของเอนไซม์ amylase โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ที่ความชื้นเริ่มต้นต่างๆ

- ◆ ความชื้นเริ่มต้น 38 เปอร์เซ็นต์
- ความชื้นเริ่มต้น 49 เปอร์เซ็นต์
- ▲ ความชื้นเริ่มต้น 58 เปอร์เซ็นต์
- ความชื้นเริ่มต้น 66 เปอร์เซ็นต์
- × ความชื้นเริ่มต้น 74 เปอร์เซ็นต์

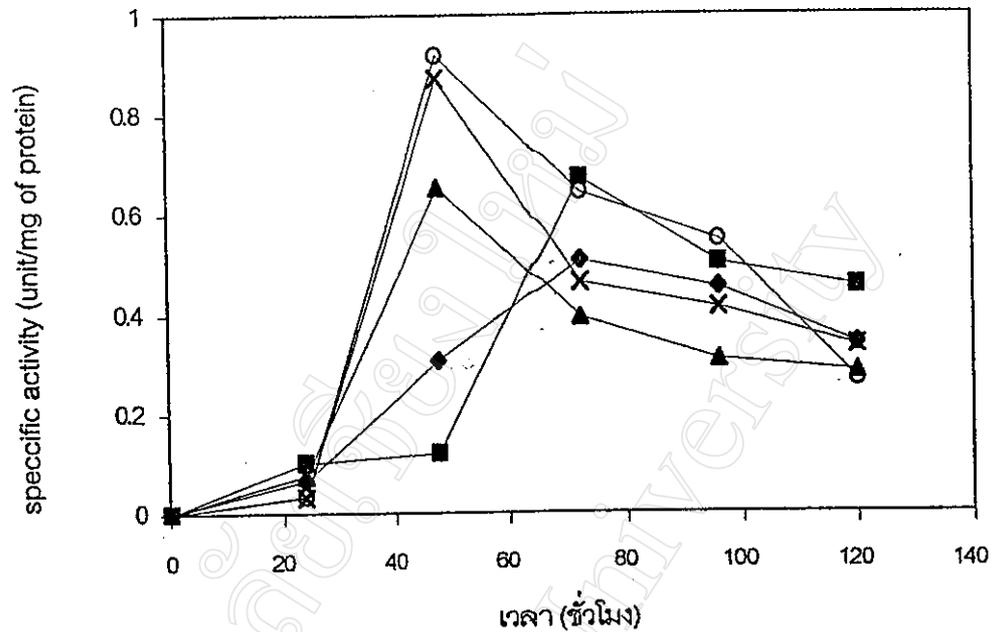
จากกราฟในรูป 3.51 แสดงความสามารถของเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ในการผลิตเอนไซม์ amylase ที่ปริมาณความชื้นเริ่มต้นต่างๆพบว่าที่ความชื้นเริ่มต้น 66 เปอร์เซ็นต์ เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์ amylase ได้สูงสุด 17.42 ยูนิตต่อกรัมของกากมันส์ตาร์ด ในเวลาการเพาะเลี้ยง 2 วัน รองลงมาคือที่ความชื้นเริ่มต้น 74, 58, 49 และ 38 เปอร์เซ็นต์ ในปริมาณ 8.71, 8.20, 7.97 และ 7.10 ยูนิตต่อกรัมของกากมันส์ตาร์ด ตามลำดับ



รูป 3.52 แสดงปริมาณโปรตีนในสารละลายเอนไซม์ amylase โดยเชื้อ *Aspergillus spp.4* ที่ความชื้นเริ่มต้นต่างๆ

- ◆ ความชื้นเริ่มต้น 38 เปอร์เซ็นต์
- ความชื้นเริ่มต้น 49 เปอร์เซ็นต์
- ▲ ความชื้นเริ่มต้น 58 เปอร์เซ็นต์
- ความชื้นเริ่มต้น 66 เปอร์เซ็นต์
- × ความชื้นเริ่มต้น 74 เปอร์เซ็นต์

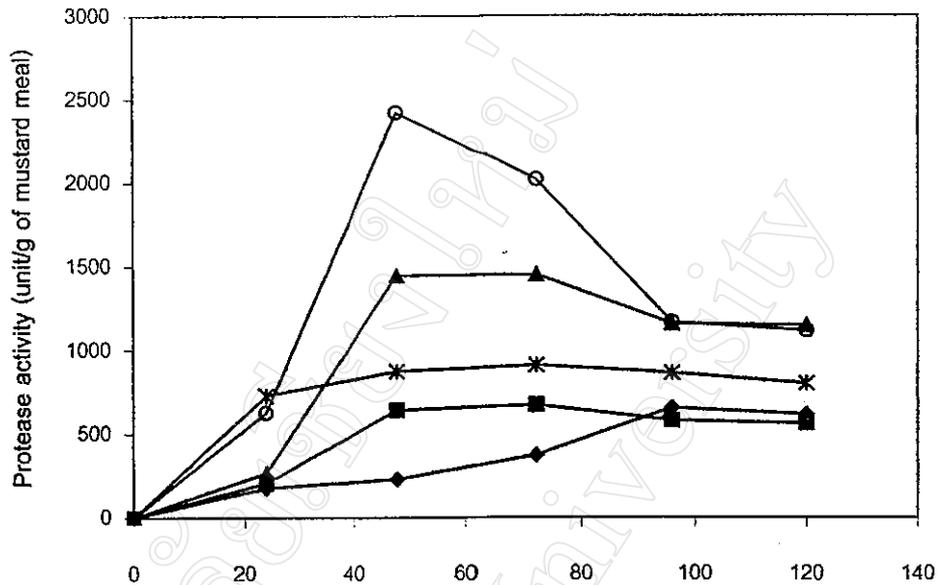
จากกราฟในรูป 3.52 แสดงปริมาณโปรตีนในสารละลายเอนไซม์ amylase พบว่า ปริมาณโปรตีนในแต่ละความชื้นเริ่มต้นจะค่อนข้างคงที่ ยกเว้นในความชื้นเริ่มต้น 66 เปอร์เซ็นต์ ที่เพิ่มสูงขึ้นจนกระทั่งวันที่ห้าของการเพาะเลี้ยง



รูป 3.53 แสดง specific activity ของเอนไซม์ amylase โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ที่ความชื้นเริ่มต้นต่างๆ

- ◆ ความชื้นเริ่มต้น 38 เปอร์เซ็นต์
- ความชื้นเริ่มต้น 49 เปอร์เซ็นต์
- ▲ ความชื้นเริ่มต้น 58 เปอร์เซ็นต์
- ความชื้นเริ่มต้น 66 เปอร์เซ็นต์
- × ความชื้นเริ่มต้น 74 เปอร์เซ็นต์

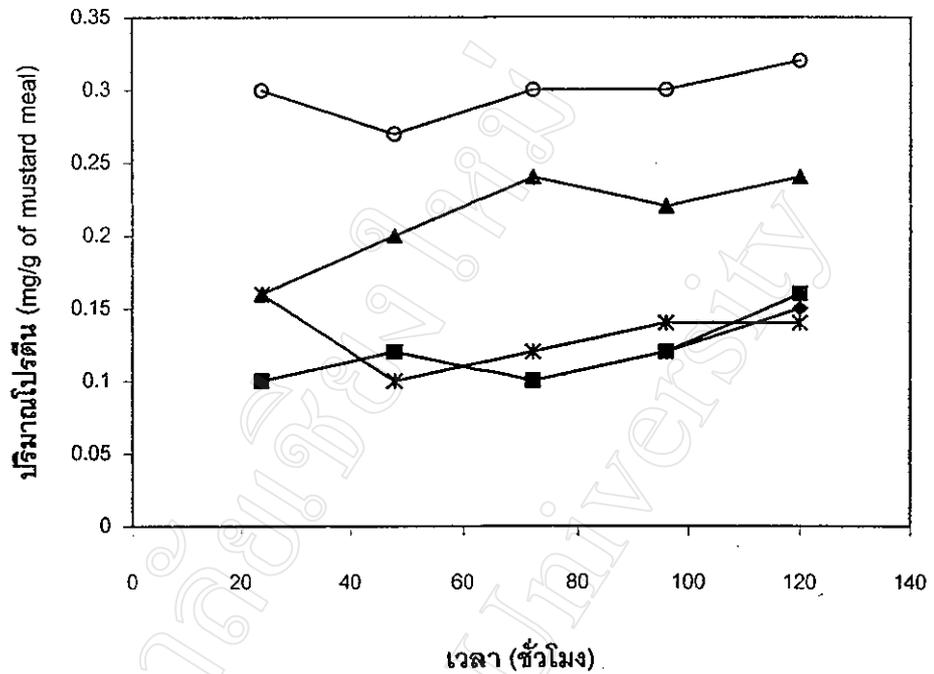
จากกราฟในรูป 3.53 แสดงความสามารถของเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ในการผลิตเอนไซม์ amylase ที่ปริมาณความชื้นเริ่มต้นต่างๆพบว่าที่ความชื้นเริ่มต้น 66 เปอร์เซ็นต์ เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์ amylase ได้สูงสุด 0.920 หน่วยต่อมิลลิกรัมโปรตีน ในเวลาการเพาะเลี้ยง 2 วัน รองลงมาคือที่ความชื้นเริ่มต้น 74, 49, 58 และ 38 เปอร์เซ็นต์ ในปริมาณ 0.87, 0.67, 0.65 และ 0.51 หน่วยต่อมิลลิกรัมโปรตีน ตามลำดับ



รูป 3.54 แสดงแอกติวิตีของเอนไซม์ protease โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ที่ความชื้นเริ่มต้นต่างๆ

- ◆ ความชื้นเริ่มต้น 38 เปอร์เซ็นต์
- ความชื้นเริ่มต้น 49 เปอร์เซ็นต์
- ▲ ความชื้นเริ่มต้น 58 เปอร์เซ็นต์
- ความชื้นเริ่มต้น 66 เปอร์เซ็นต์
- × ความชื้นเริ่มต้น 74 เปอร์เซ็นต์

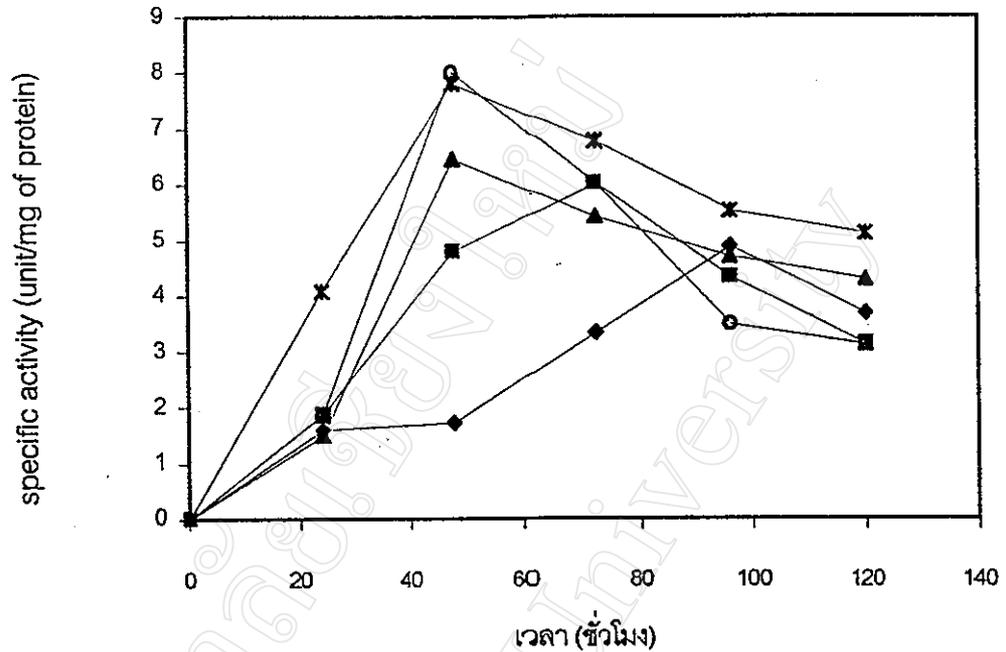
จากกราฟในรูป 3.54 แสดงความสามารถของเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ในการผลิตเอนไซม์ protease ที่ปริมาณความชื้นเริ่มต้นต่างๆพบว่าที่ความชื้นเริ่มต้น 66 เปอร์เซ็นต์ เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์ amylase ได้สูงสุด ยูนิตต่อกรัมของกากมันฝรั่ง ในเวลาการเพาะเลี้ยง 2 วัน รองลงมาคือที่ความชื้นเริ่มต้น 58, 74, 49 และ 38 เปอร์เซ็นต์ ในปริมาณ 1446, 910, 674 และ 655 ยูนิตต่อกรัมของกากมันฝรั่ง ตามลำดับ



รูป 3.55 แสดงปริมาณโปรตีนในสารละลายเอนไซม์ protease และ cellulase โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ที่ความชื้นเริ่มต้นต่างๆ

- ◆ ความชื้นเริ่มต้น 38 เปอร์เซ็นต์
- ความชื้นเริ่มต้น 49 เปอร์เซ็นต์
- ▲ ความชื้นเริ่มต้น 58 เปอร์เซ็นต์
- ความชื้นเริ่มต้น 66 เปอร์เซ็นต์
- × ความชื้นเริ่มต้น 74 เปอร์เซ็นต์

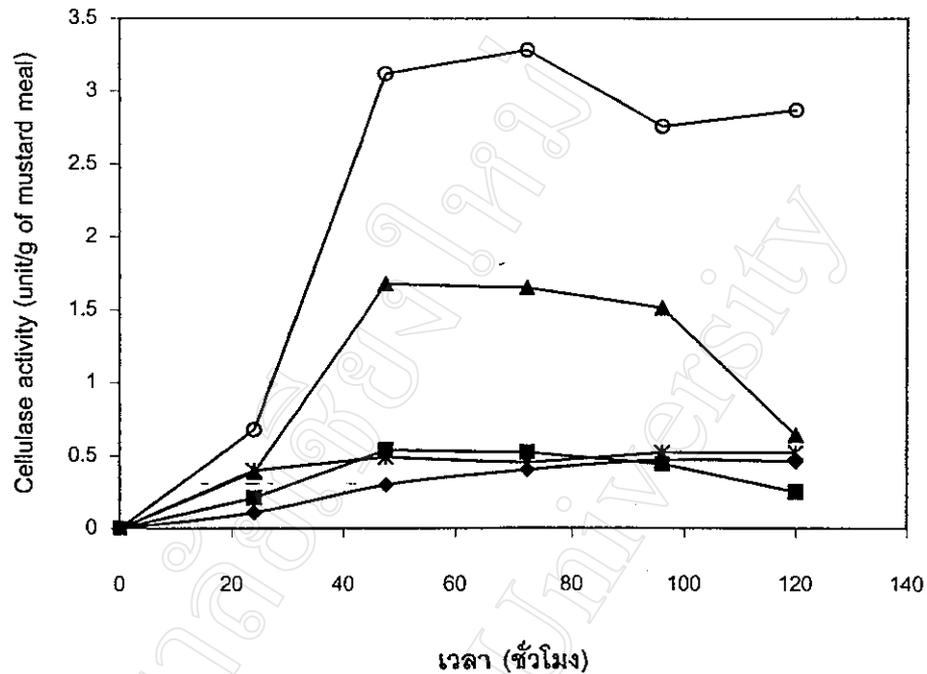
จากกราฟในรูป 3.55 แสดงปริมาณโปรตีนในสารละลายเอนไซม์ protease และ cellulase พบว่า ปริมาณโปรตีนในแต่ละความชื้นเริ่มต้นจะค่อนข้างคงที่ และเพิ่มขึ้นในปริมาณเล็กน้อย



รูป 3.56 แสดง specific activity ของเอนไซม์ protease โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ที่ความชื้นเริ่มต้นต่างๆ

- ◆ ความชื้นเริ่มต้น 38 เปอร์เซ็นต์
- ความชื้นเริ่มต้น 49 เปอร์เซ็นต์
- ▲ ความชื้นเริ่มต้น 58 เปอร์เซ็นต์
- ความชื้นเริ่มต้น 66 เปอร์เซ็นต์
- ✱ ความชื้นเริ่มต้น 74 เปอร์เซ็นต์

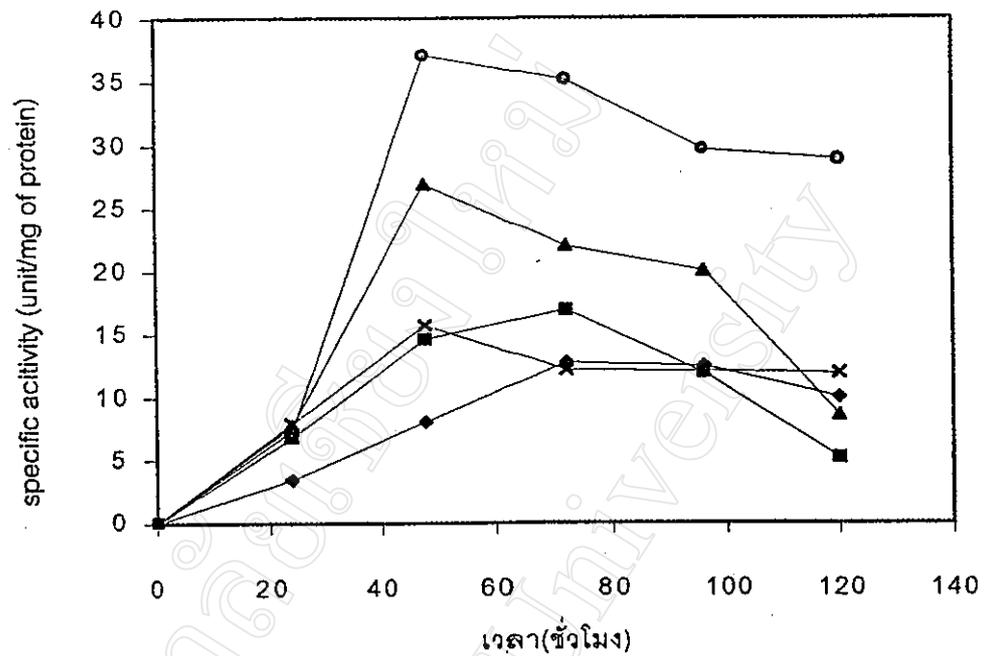
จากกราฟในรูป 3.56 แสดงความสามารถของเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ในการผลิตเอนไซม์ protease ที่ปริมาณความชื้นเริ่มต้นต่างๆพบว่าที่ความชื้นเริ่มต้น 66 เปอร์เซ็นต์ เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์ amylase ได้สูงสุด 8.02 หน่วยต่อมิลลิกรัมโปรตีน ในเวลาการเพาะเลี้ยง 2 วัน รองลงมาคือที่ความชื้นเริ่มต้น 74, 58, 49 และ 38 เปอร์เซ็นต์ ในปริมาณ 7.81, 6.46, 6.02 และ 4.88 หน่วยต่อมิลลิกรัมโปรตีน ตามลำดับ



รูป 3.57 แสดงแอกติวิตีของเอนไซม์ cellulase โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ที่ปริมาณความชื้นเริ่มต้นต่างๆ

- ◆ ความชื้นเริ่มต้น 38 เปอร์เซ็นต์
- ความชื้นเริ่มต้น 49 เปอร์เซ็นต์
- ▲ ความชื้นเริ่มต้น 58 เปอร์เซ็นต์
- ความชื้นเริ่มต้น 66 เปอร์เซ็นต์
- × ความชื้นเริ่มต้น 74 เปอร์เซ็นต์

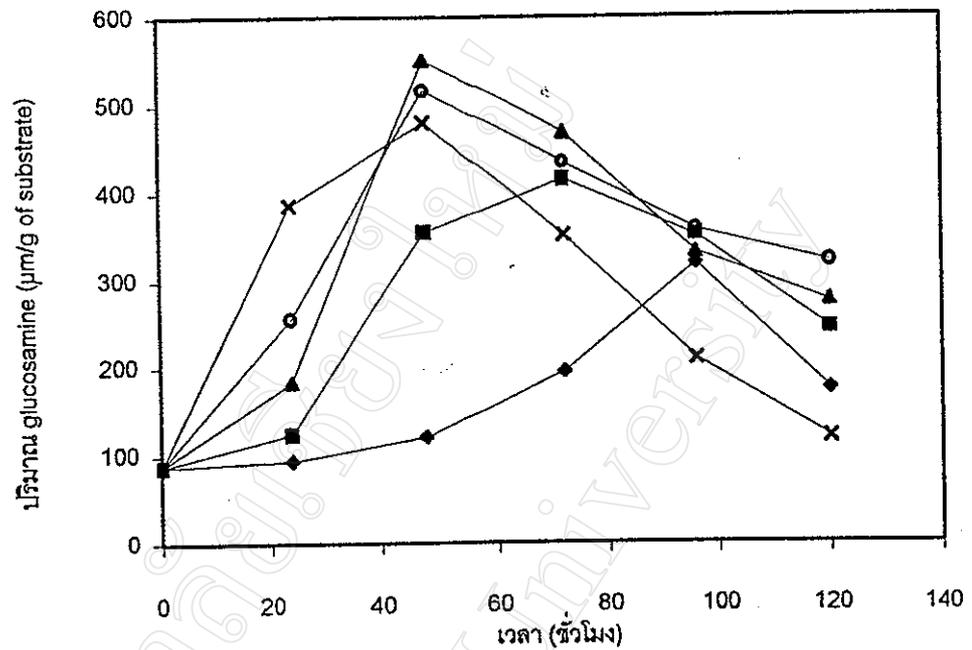
จากกราฟในรูป 3.57 แสดงความสามารถของเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ในการผลิตเอนไซม์ cellulase ที่ปริมาณความชื้นเริ่มต้นต่างๆพบว่าที่ความชื้นเริ่มต้น 66 เปอร์เซ็นต์ เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์ cellulase ได้สูงสุด 3.28 หน่วยต่อกรัมของกากมันส์ตาร์ด ในเวลาการเพาะเลี้ยง 2 วัน รองลงมาคือที่ความชื้นเริ่มต้น 58, 49, 74 และ 38 เปอร์เซ็นต์ ในปริมาณ 1.65, 0.54, 0.52, 0.47 และ หน่วยต่อกรัมของกากมันส์ตาร์ด ตามลำดับ



รูป 3.58 แสดง specific activity ของเอนไซม์ cellulase โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ที่ความชื้นเริ่มต้นต่างๆ

- ◆— ความชื้นเริ่มต้น 38 เปอร์เซ็นต์
- ความชื้นเริ่มต้น 49 เปอร์เซ็นต์
- ▲— ความชื้นเริ่มต้น 58 เปอร์เซ็นต์
- ความชื้นเริ่มต้น 66 เปอร์เซ็นต์
- ×— ความชื้นเริ่มต้น 74 เปอร์เซ็นต์

จากกราฟในรูป 3.58 แสดงความสามารถของเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ในการผลิตเอนไซม์ cellulase ที่ปริมาณความชื้นเริ่มต้นต่างๆพบว่าที่ความชื้นเริ่มต้น 66 เปอร์เซ็นต์ เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์ cellulase ได้สูงสุด 37.16 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน ในเวลาการเพาะเลี้ยง 2 วัน รองลงมาคือที่ความชื้นเริ่มต้น 58, 49, 74 และ 38 เปอร์เซ็นต์ ในปริมาณ 22.08, 16.88, 15.72 และ 12.72 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน ตามลำดับ



รูป 3.59 แสดงปริมาณ glucosamine โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ที่ความชื้นเริ่มต้นต่างๆ

- ◆— ความชื้นเริ่มต้น 38 เปอร์เซ็นต์
- ความชื้นเริ่มต้น 49 เปอร์เซ็นต์
- ▲— ความชื้นเริ่มต้น 58 เปอร์เซ็นต์
- ความชื้นเริ่มต้น 66 เปอร์เซ็นต์
- ×— ความชื้นเริ่มต้น 74 เปอร์เซ็นต์

จากกราฟในรูป 3.59 แสดงความสามารถของเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ในการเจริญบนกากมันฝรั่งที่ปริมาณความชื้นเริ่มต้นต่างๆพบว่า ที่ความชื้นเริ่มต้น 58 เปอร์เซ็นต์ สามารถวัดปริมาณกลูโคซามีน ได้สูงสุด 552 ไมโครโมลต่อกรัมของอาหารในวันที่ 2 ของการเพาะเลี้ยง รองลงมาคือที่ความชื้นเริ่มต้น 66, 74, 49 และ 38 เปอร์เซ็นต์ ในปริมาณ 517, 481, 356 และ 320 ไมโครโมลต่อกรัมของอาหารตามลำดับ

ตาราง 3.5 แสดงแอกติวิตีของเอนไซม์ที่ผลิตโดยเชื้อ *Aspergillus spp.*4 ที่ความชื้นเริ่มต้น
ต่างๆ

ความชื้นเริ่มต้น (%) วันที่	กลูตามิเนส (unit/g of mustard meal)	อะไมเลส (unit/g of mustard meal)	โปรติเอส (unit/g of mustard meal)	เซลลูเลส (unit/g of mustard meal)
38				
1	0.55	1.21	179	0.11
2	2.49	5.87	231	0.30
3	2.67	6.44	374	0.40
4	4.48	7.10	655	0.47
5	3.36	7.51	616	0.46
49				
1	2.30	2.05	209	0.21
2	2.99	2.46	643	0.54
3	8.45	6.34	674	0.52
4	7.70	7.89	580	0.44
5	7.06	7.98	562	0.25
58				
1	3.12	1.26	268	0.39
2	4.19	8.20	1446	1.68
3	6.08	6.15	1452	1.65
4	5.80	5.87	1157	1.51
5	5.01	5.74	1150	0.64
66				
1	11.74	0.67	628	0.68
2	12.29	17.42	2423	3.12
3	6.00	13.13	2021	3.28
4	4.93	13.02	1167	2.76
5	3.66	10.65	1117	2.87

ตาราง 3.5 (ต่อ)

ความชื้นเริ่มต้น (%) วันที่	กลูตามิเนส (unit/g of mustard meal)	อะไมเลส (unit/g of mustard meal)	โปรติเอส (unit/g of mustard meal)	เซลลูเลส (unit/g of mustard meal)
74				
1	4.35	0.47	730	0.40
2	10.62	8.24	874	0.49
3	10.53	8.71	910	0.45
4	2.40	7.76	863	0.52
5	2.08	7.51	801	0.52

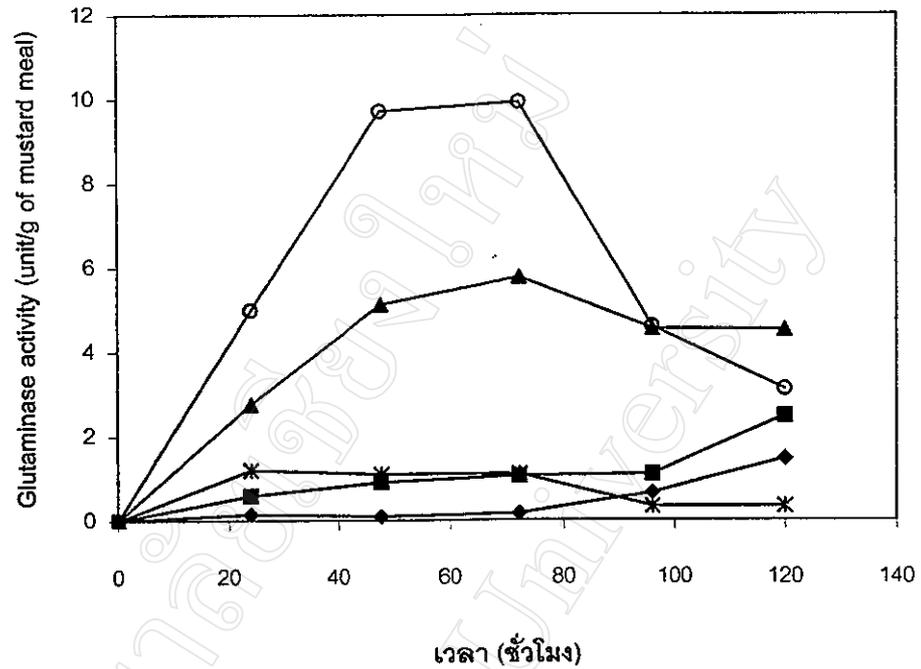
จากการศึกษาการเจริญและการผลิตเอนไซม์ของเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ในการเลี้ยงบนกากมัสตาร์ดในสภาพอาหารแข็ง ที่ปริมาณความชื้นเริ่มต้นต่างๆกัน พบว่า ที่ปริมาณความชื้นเริ่มต้น 66 เปอร์เซ็นต์ เชื้อ *Aspergillus* spp.4 สามารถเจริญและผลิตเอนไซม์กลูตามิเนส อะไมเลส โปรติเอส และเซลลูเลส ได้ในปริมาณสูงสุด ดังนั้นจึงเลือกใช้ปริมาณความชื้นเริ่มต้น 66 เปอร์เซ็นต์ ในการทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตเอนไซม์ของเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ต่อไป

3.4 ผลการศึกษาการเจริญและการผลิตเอนไซม์ของเชื้อ *Aspergillus* สายพันธุ์ต่าง ๆ บนอาหารแข็งของกากมันสตาร์ด ที่อุณหภูมิต่างๆ

3.4.1 ผลการศึกษาการเจริญและการผลิตเอนไซม์ของเชื้อ *Aspergillus* spp.3 บนอาหารแข็งของกากมันสตาร์ด ที่อุณหภูมิต่างๆ

การศึกษาการเจริญและการผลิตเอนไซม์ของเชื้อ *Aspergillus* spp.3 บนอาหารแข็งของกากมันสตาร์ด ที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นการทดลองเพื่อหาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญและผลิตเอนไซม์กลูตามิเนส อะไมเลส โปรตีเอส และเซลลูเลส ให้ได้ในปริมาณสูงสุด

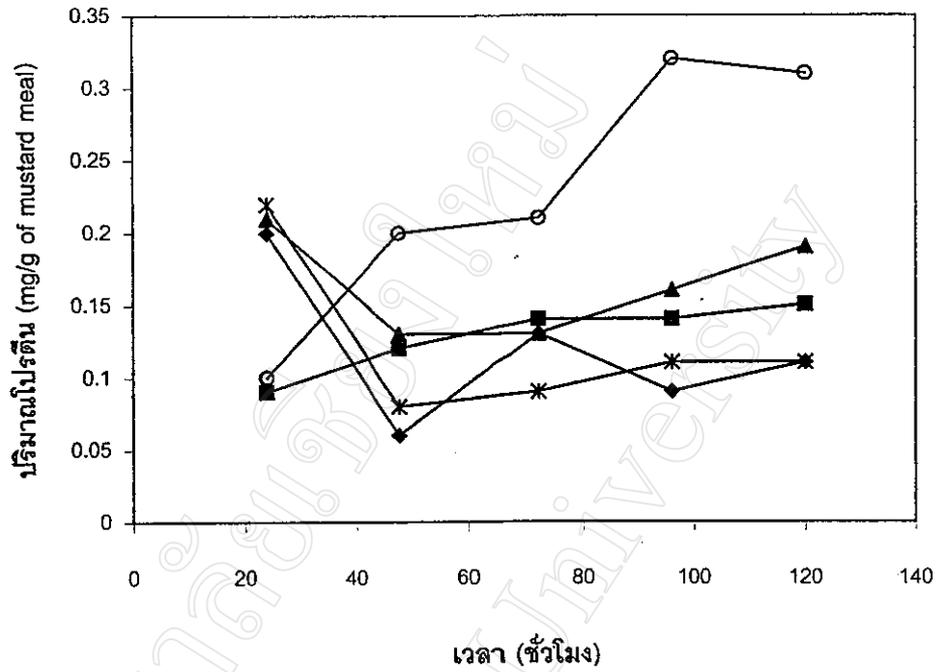
ในการทดลองได้ชั่งกากมันสตาร์ด 10.0 กรัม ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร จำนวน 25 ใบ จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที ทำการถ่ายเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ในปริมาณ 10^7 สปอร์ ลงในกากมันสตาร์ดที่ฆ่าเชื้อแล้ว ปรับความชื้นโดยเติมน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วลงไป 16 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 10, 20, 25, 30 และ 40 องศาเซลเซียส อุณหภูมิละ 5 ใบ ทำการเขย่าด้วยมือวันละ 3 ครั้ง และสกัดเอนไซม์ในแต่ละอุณหภูมิ อุณหภูมิละ 1 ใบ ทุก 24 ชั่วโมงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง



รูป 3.60 แสดงแอกติวิตีของเอนไซม์ glutaminase โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ที่อุณหภูมิต่างๆ

- ◆ 10 องศาเซลเซียส
- 20 องศาเซลเซียส
- ▲ 25 องศาเซลเซียส
- 30 องศาเซลเซียส
- × 40 องศาเซลเซียส

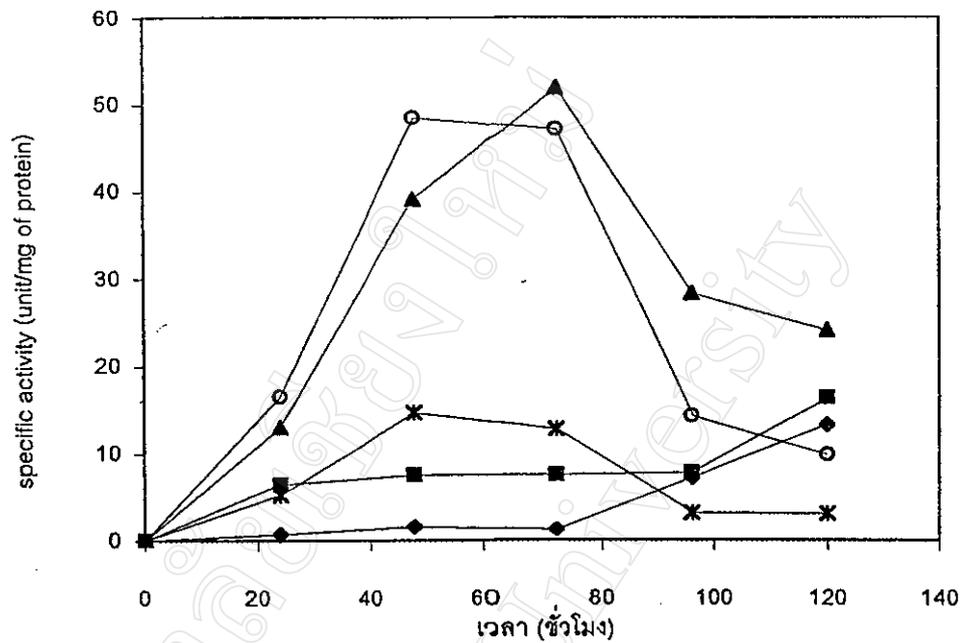
จากกราฟในรูป 3.60 แสดงความสามารถของเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ในการผลิตเอนไซม์ glutaminase ที่อุณหภูมิต่างๆ พบว่าที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์ glutaminase ได้สูงสุดในปริมาณ 11.52 ยูนิตต่อกรัมของกากมันฝรั่ง ในเวลาการเพาะเลี้ยง 3 วัน รองลงมาคือที่อุณหภูมิ 30, 20, 40 และ 10 องศาเซลเซียส ในปริมาณ 9.72, 2.42, 1.46 และ 1.2 ยูนิตต่อกรัมของกากมันฝรั่ง ตามลำดับ



รูป 3.61 แสดงปริมาณโปรตีนในสารละลายเอนไซม์ glutaminase และ amylase โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ที่อุณหภูมิต่างๆ

- ◆ 10 องศาเซลเซียส
- 20 องศาเซลเซียส
- ▲ 25 องศาเซลเซียส
- 30 องศาเซลเซียส
- * 40 องศาเซลเซียส

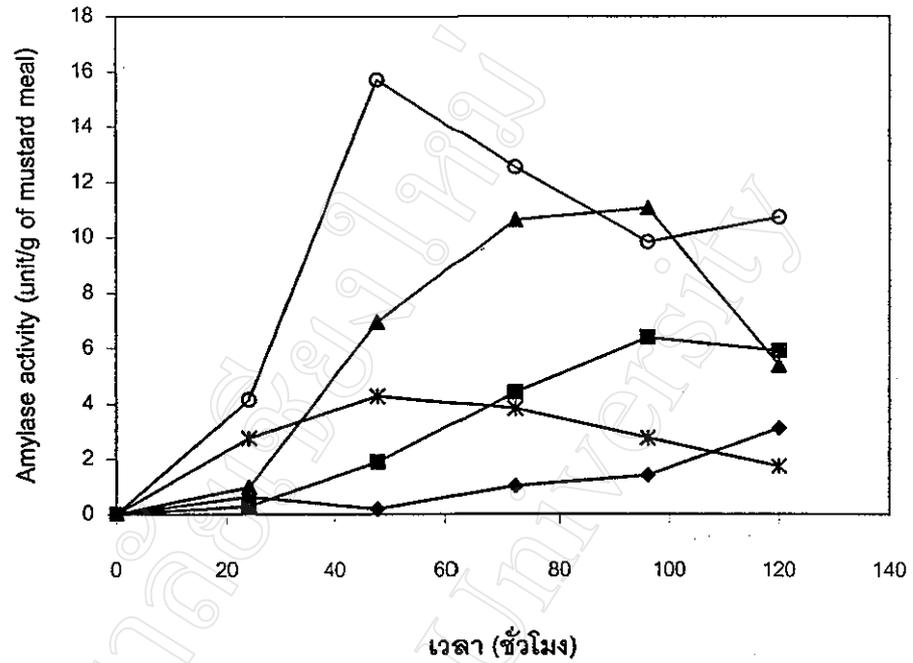
จากกราฟในรูป 3.61 แสดงปริมาณโปรตีนในสารละลายเอนไซม์ glutaminase และ amylase พบว่า ปริมาณโปรตีนในแต่ละอุณหภูมิจะลดลงในวันที่สองของการเพาะเลี้ยง และจะมีปริมาณเพิ่มสูงขึ้นจนถึงวันที่ห้าในการเพาะเลี้ยง ยกเว้นที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ที่เพิ่มสูงขึ้นจนกระทั่งวันที่ห้าของการเพาะเลี้ยง



รูป 3.62 แสดง specific activity ของเอนไซม์ glutaminase โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ที่อุณหภูมิต่างๆ

- ◆ 10 องศาเซลเซียส
- 20 องศาเซลเซียส
- ▲ 25 องศาเซลเซียส
- 30 องศาเซลเซียส
- * 40 องศาเซลเซียส

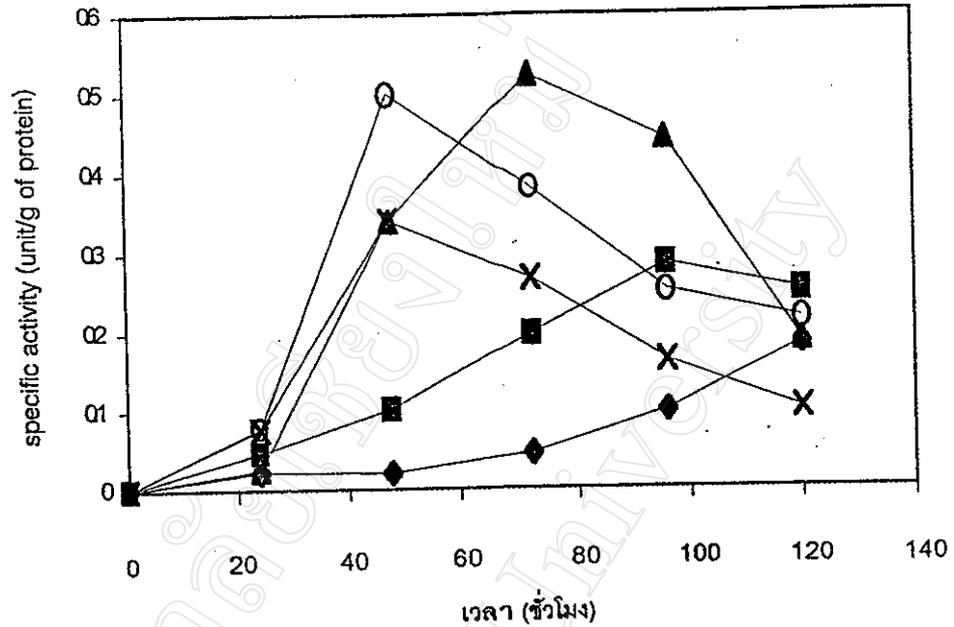
จากกราฟในรูป 3.62 แสดงความสามารถของเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ในการผลิตเอนไซม์ glutaminase ที่อุณหภูมิต่างๆพบว่าที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์ glutaminase ได้สูงสุดในปริมาณ 52.00 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน ในเวลาการเพาะเลี้ยง 3 วัน รองลงมาคือที่อุณหภูมิ 30, 20, 40 และ 10 องศาเซลเซียส ในปริมาณ 48.60, 16.40, 14.70 และ 13.30 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน ตามลำดับ



รูป 3.63 แสดงแอกติวิตีของเอนไซม์ amylase โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ที่อุณหภูมิต่างๆ

- ◆ 10 องศาเซลเซียส
- 20 องศาเซลเซียส
- ▲ 25 องศาเซลเซียส
- 30 องศาเซลเซียส
- × 40 องศาเซลเซียส

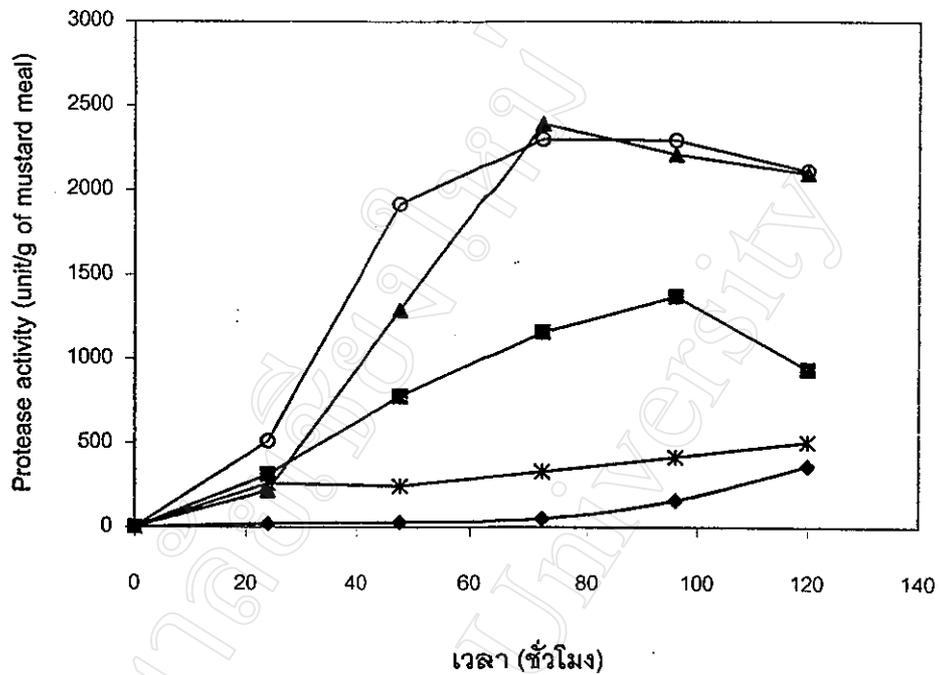
จากกราฟในรูป 3.63 แสดงความสามารถของเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ในการผลิตเอนไซม์ amylase ที่อุณหภูมิต่างๆ พบว่าที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์ amylase ได้สูงสุด 22.12 ยูนิตต่อกรัมของกากมันส์ตาร์ด ในเวลาการเพาะเลี้ยง 2 วัน รองลงมาคือที่อุณหภูมิ 30, 20, 40 และ 10 องศาเซลเซียส ในปริมาณ 15.71, 6.38, 4.27 และ 3.11 ยูนิตต่อกรัมของกากมันส์ตาร์ด ตามลำดับ



รูป 3.64 แสดง specific activity ของเอนไซม์ amylase โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ที่ อุณหภูมิต่างๆ

- ◆ 10 องศาเซลเซียส
- 20 องศาเซลเซียส
- ▲ 25 องศาเซลเซียส
- 30 องศาเซลเซียส
- × 40 องศาเซลเซียส

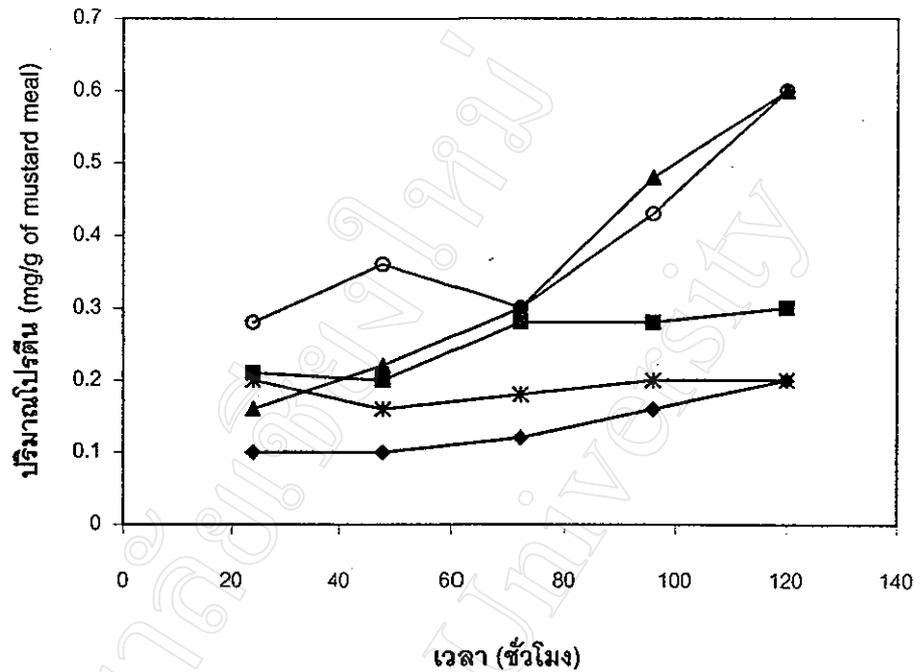
จากกราฟในรูป 3.64 แสดงความสามารถของเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ในการผลิตเอนไซม์ amylase ที่อุณหภูมิต่างๆ พบว่าที่ 25 องศาเซลเซียส เพื่อสามารถผลิตเอนไซม์ amylase ได้สูงสุด 0.524 หน่วยต่อมิลลิกรัมโปรตีน ในเวลาการเพาะเลี้ยง 2 วัน รองลงมาคือที่ อุณหภูมิ 30, 40, 20 และ 10 องศาเซลเซียส ในปริมาณ 0.50, 0.34, 0.29 และ 0.20 หน่วยต่อ มิลลิกรัมโปรตีน ตามลำดับ



รูป 3.65 แสดงแอกติวิตีของเอนไซม์ protease โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ที่อุณหภูมิต่างๆ

- ◆ 10 องศาเซลเซียส
- 20 องศาเซลเซียส
- ▲ 25 องศาเซลเซียส
- 30 องศาเซลเซียส
- * 40 องศาเซลเซียส

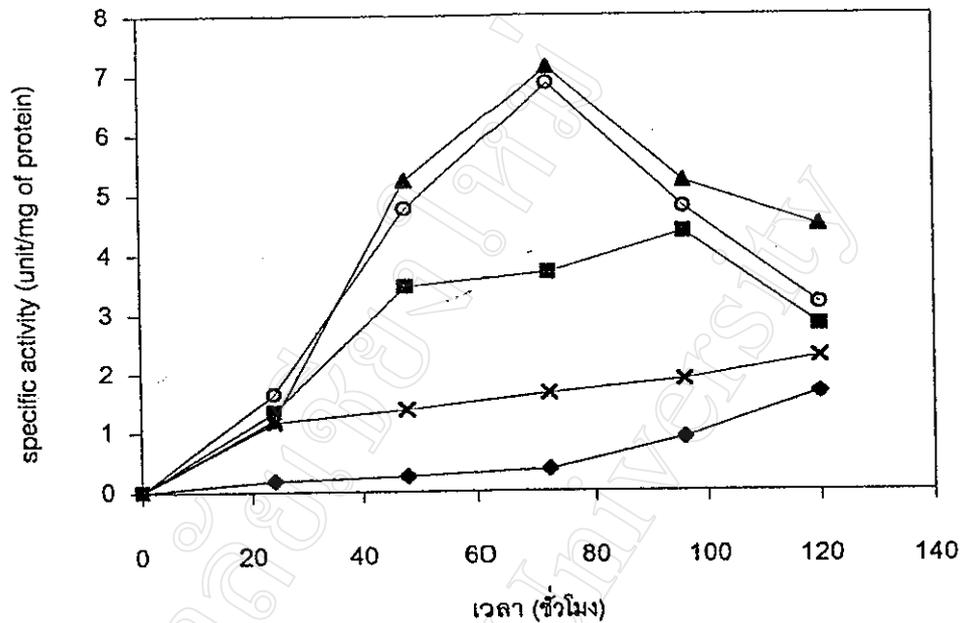
จากกราฟในรูป 3.65 แสดงความสามารถของเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ในการผลิตเอนไซม์ protease ที่อุณหภูมิต่างๆพบว่าที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์ protease ได้สูงสุด 2394 ยูนิตต่อกรัมของกากมันส์ตาร์ด ในเวลาการเพาะเลี้ยง 3 วัน รองลงมาคือที่อุณหภูมิ 30, 20, 40 และ 10 องศาเซลเซียส ในปริมาณ 2300, 1369, 506 และ 365 ยูนิตต่อกรัมของกากมันส์ตาร์ด ตามลำดับ



รูป 3.66 แสดงปริมาณโปรตีนในสารละลายเอนไซม์ protease และ cellulase โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ที่อุณหภูมิต่างๆ

- ◆ 10 องศาเซลเซียส
- 20 องศาเซลเซียส
- ▲ 25 องศาเซลเซียส
- 30 องศาเซลเซียส
- * 40 องศาเซลเซียส

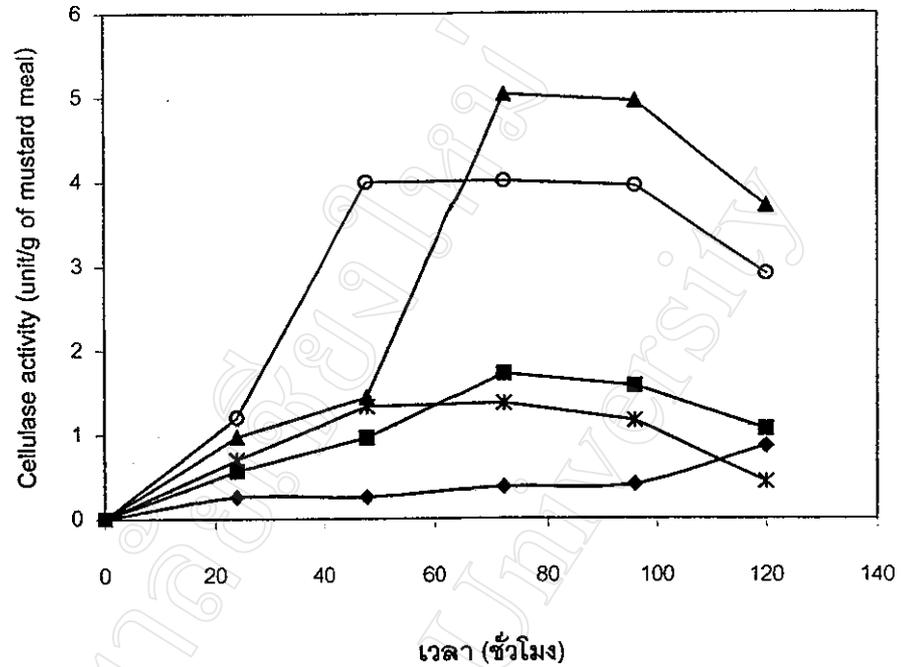
จากกราฟในรูป 3.66 แสดงปริมาณโปรตีนในสารละลายเอนไซม์ protease และ cellulase พบว่า ปริมาณโปรตีนในแต่ละอุณหภูมิจะมีปริมาณค่อนข้างคงที่ ยกเว้นที่อุณหภูมิ 25 และ 30 องศาเซลเซียส ที่เพิ่มสูงขึ้นจนกระทั่งวันที่ห้าของการเพาะเลี้ยง



รูป 3.67 แสดง specific activity ของเอนไซม์ protease โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ที่ อุณหภูมิต่างๆ

- ◆ 10 องศาเซลเซียส
- 20 องศาเซลเซียส
- ▲ 25 องศาเซลเซียส
- 30 องศาเซลเซียส
- × 40 องศาเซลเซียส

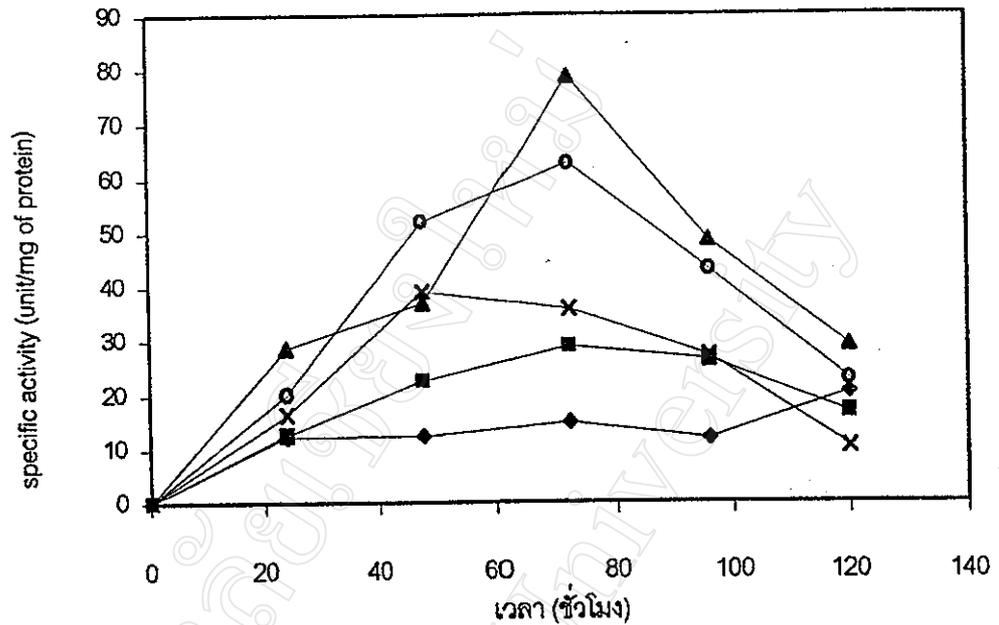
จากกราฟในรูป 3.67 แสดงความสามารถของเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ในการผลิตเอนไซม์ protease ที่อุณหภูมิต่างๆพบว่าที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์ protease ได้สูงสุด 7.13 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน ในเวลาการเพาะเลี้ยง 3 วัน รองลงมาคือที่อุณหภูมิ 30, 20, 40 และ 10 องศาเซลเซียส ในปริมาณ 6.88, 4.37, 2.26 และ 1.6 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน ตามลำดับ



รูป 3.68 แสดงแอกติวิตีของเอนไซม์ cellulase โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ที่อุณหภูมิต่างๆ

- ◆ 10 องศาเซลเซียส
- 20 องศาเซลเซียส
- ▲ 25 องศาเซลเซียส
- 30 องศาเซลเซียส
- × 40 องศาเซลเซียส

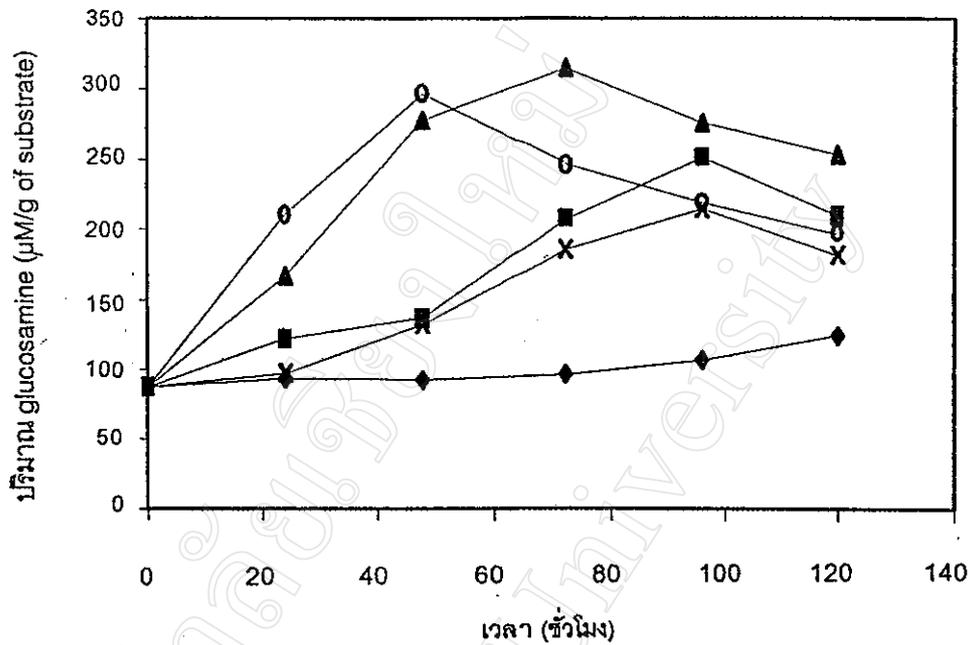
จากกราฟในรูป 3.68 แสดงความสามารถของเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ในการผลิตเอนไซม์ cellulase ที่อุณหภูมิต่างๆพบว่าที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์ cellulase ได้สูงสุด 5.04 ยูนิตต่อกรัมของกากมันฝรั่ง ในเวลาการเพาะเลี้ยง 2 วัน รองลงมาคือที่อุณหภูมิ 30, 40, 20 และ 10 องศาเซลเซียส ในปริมาณ 4.01, 1.72, 1.37 และ 0.86 ยูนิตต่อกรัมของกากมันฝรั่ง ตามลำดับ



รูป 3.69 แสดง specific activity ของเอนไซม์ cellulase โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ที่ อุณหภูมิต่างๆ

- ◆ 10 องศาเซลเซียส
- 20 องศาเซลเซียส
- ▲ 25 องศาเซลเซียส
- 30 องศาเซลเซียส
- × 40 องศาเซลเซียส

จากกราฟในรูป 3.69 แสดงความสามารถของเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ในการผลิตเอนไซม์ cellulase ที่อุณหภูมิต่างๆพบว่าที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์ cellulase ได้สูงสุด 78.8 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน ในเวลาการเพาะเลี้ยง 2 วัน รองลงมาคือที่อุณหภูมิ 30, 20, 40 และ 10 องศาเซลเซียส ในปริมาณ 52.1, 39.0, 28.8 และ 20.2 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน ตามลำดับ



รูป 3.70 แสดงปริมาณ glucosamine โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ที่อุณหภูมิต่างๆ

- ◆ 10 องศาเซลเซียส
- 20 องศาเซลเซียส
- ▲ 25 องศาเซลเซียส
- 30 องศาเซลเซียส
- × 40 องศาเซลเซียส

จากกราฟในรูป 3.70 แสดงความสามารถของเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ในการเจริญบนกากมันตารัดที่อุณหภูมิต่างๆพบว่า ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส สามารถวัดปริมาณกลูโคซามีน ได้สูงสุด 315 ไมโครโมลต่อกรัมของอาหารในวันที่ 3 ของการเพาะเลี้ยง รองลงมาคือที่อุณหภูมิ 30, 20, 40 และ 10 องศาเซลเซียส ในปริมาณ 297, 252, 215 และ 125 ไมโครโมลต่อกรัมของอาหาร ตามลำดับ

ตาราง 3.6 แสดงแอกติวิตีของเอนไซม์ที่ผลิตโดยเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ที่อุณหภูมิต่างๆ

อุณหภูมิ (°C) วันที่	กลูตามิเนส (unit/g of mustard meal)	อะไมเลส (unit/g of mustard meal)	โปรติเอส (unit/g of mustard meal)	เซลลูเลส (unit/g of mustard meal)
10				
1	0.15	0.63	20.1	0.26
2	0.10	0.19	29.1	0.26
3	0.16	1.02	49.7	0.38
4	0.65	1.41	159	0.41
5	1.46	3.11	365	0.89
20				
1	0.59	0.30	313	0.57
2	0.91	1.89	774	0.96
3	1.06	4.40	1153	1.72
4	1.09	6.38	1369	1.57
5	2.46	5.89	937	1.06
25				
1	2.75	19.8	217	0.97
2	10.22	13.88	1288	1.44
3	11.52	21.24	2394	5.04
4	9.06	22.12	2216	4.96
5	9.00	10.74	2101	3.71
30				
1	1.66	4.15	511	1.20
2	9.72	15.71	1917	4.00
3	9.93	12.54	2303	4.01
4	4.58	9.82	2300	3.95
5	3.10	10.71	2115	2.90

ตาราง 3.6 (ต่อ)

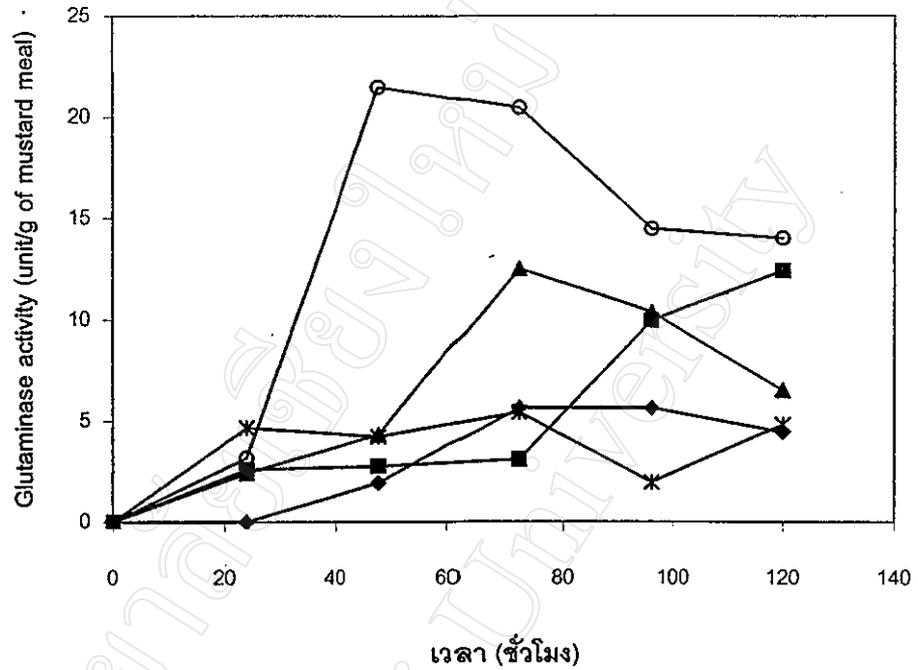
อุณหภูมิ (°c) วันที่	กลูตามิเนต (unit/g of mustard meal)	อะไมเลส (unit/g of mustard meal)	โปรติเอส (unit/g of mustard meal)	เซลลูเลส (unit/g of mustard meal)
40				
1	1.20	2.76	260	0.70
2	1.10	4.27	244	1.33
3	1.10	3.82	328	1.37
4	0.33	2.76	416	1.16
5	0.33	1.73	506	0.44

จากการศึกษาการเจริญและการผลิตเอนไซม์ของเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ในการเลี้ยงบนกากมันต์ตาร์ดในสภาพอาหารแข็ง ที่อุณหภูมิต่างๆ พบว่า ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เชื้อสามารถเจริญและผลิตเอนไซม์กลูตามิเนต อะไมเลส โปรติเอส และเซลลูเลส ได้ในปริมาณสูงสุด ดังนั้นจึงเลือกใช้อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตเอนไซม์ของเชื้อ *Aspergillus* spp.3 ต่อไป

3.4.2 ผลการศึกษาการเจริญและการผลิตเอนไซม์ของเชื้อ *Aspergillus* spp.4 บนอาหารแข็งของกากมันสตาร์ด ที่อุณหภูมิต่างๆ

การศึกษาการเจริญและการผลิตเอนไซม์ของเชื้อ *Aspergillus* spp.4 บนอาหารแข็งของกากมันสตาร์ด ที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นการทดลองเพื่อหาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญและสามารถผลิตเอนไซม์กลูตามิเนส อะไมเลส โปรติเอส และเซลลูเลส ให้ได้ในปริมาณสูงสุด

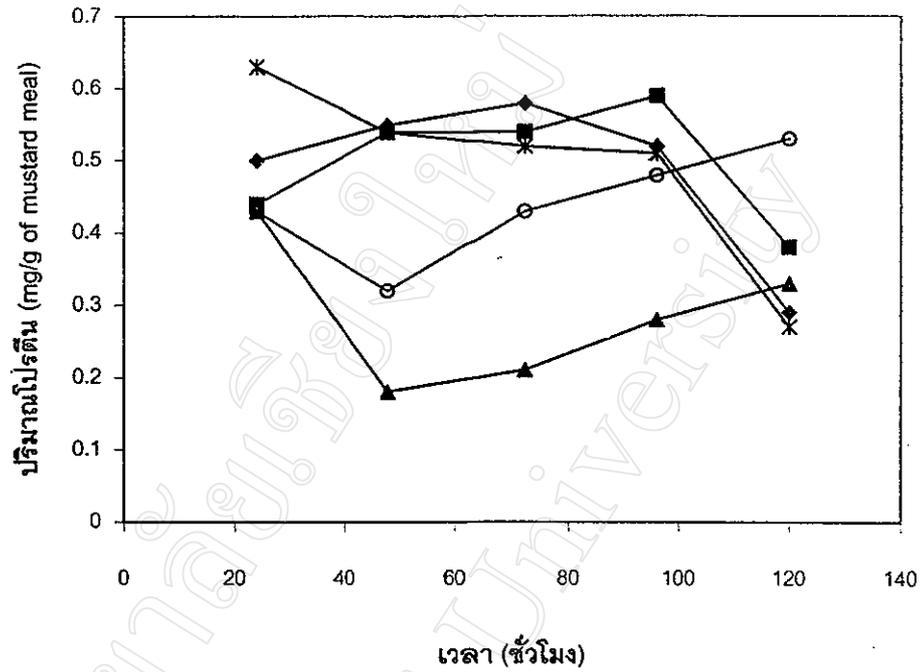
ในการทดลองได้ชั่งกากมันสตาร์ด 10.0 กรัม ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร จำนวน 25 ใบ จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที ทำการถ่ายเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ในปริมาณ 10^7 สปอร์ ลงในกากมันสตาร์ดที่ฆ่าเชื้อแล้ว แล้วปรับความชื้นโดยเติมน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วลงไป 16 มิลลิลิตร นำไปป่มที่อุณหภูมิ 10, 20, 25, 30 และ 40 องศาเซลเซียส อุณหภูมิละ 5 ใบ ทำการเขย่าด้วยมือวันละ 3 ครั้ง และสกัดเอนไซม์ในแต่ละอุณหภูมิ อุณหภูมิละ 1 ใบ ทุก 24 ชั่วโมงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง



รูป 3.71 แสดงแอกติวิตีของเอนไซม์ glutaminase โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ที่อุณหภูมิต่างๆ

- ◆ 10 องศาเซลเซียส
- 20 องศาเซลเซียส
- ▲ 25 องศาเซลเซียส
- 30 องศาเซลเซียส
- × 40 องศาเซลเซียส

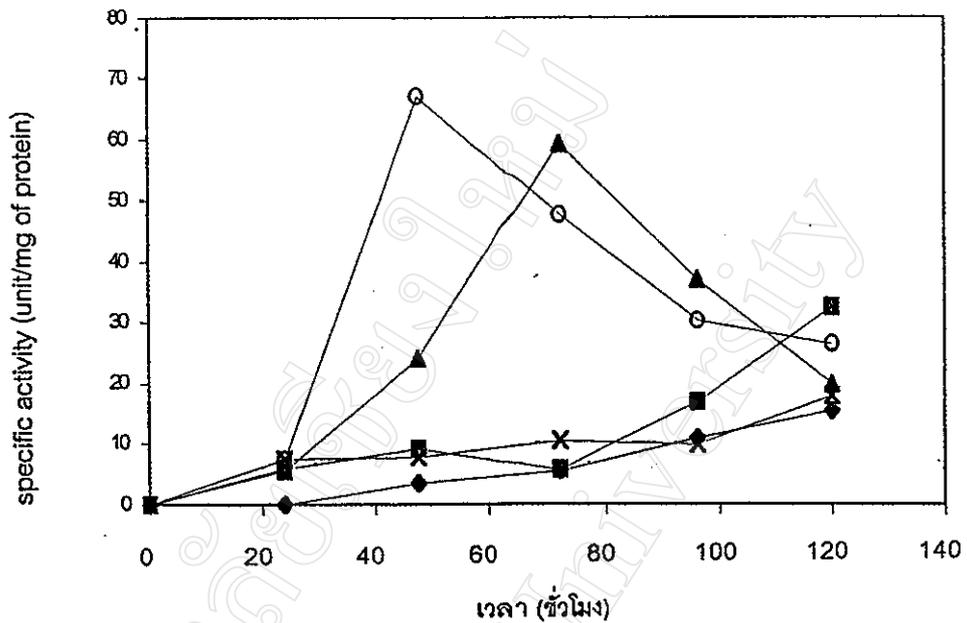
จากกราฟในรูป 3.71 แสดงความสามารถของเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ในการผลิตเอนไซม์ glutaminase ที่อุณหภูมิต่างๆพบว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์ glutaminase ได้สูงสุดในปริมาณ 21.48 ยูนิตต่อกรัมของกากมันส์ตาร์ด ในเวลาการเพาะเลี้ยง 2 วัน รองลงมาคือที่อุณหภูมิ 25, 20, 10 และ 40 องศาเซลเซียส ในปริมาณ 12.48, 12.39, 7.66 และ 5.41 ยูนิตต่อกรัมของกากมันส์ตาร์ด ตามลำดับ



รูป 3.72 แสดงปริมาณโปรตีนในสารละลายเอนไซม์ glutaminase และ protease โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ที่อุณหภูมิต่างๆ

- ◆ 10 องศาเซลเซียส
- 20 องศาเซลเซียส
- ▲ 25 องศาเซลเซียส
- 30 องศาเซลเซียส
- × 40 องศาเซลเซียส

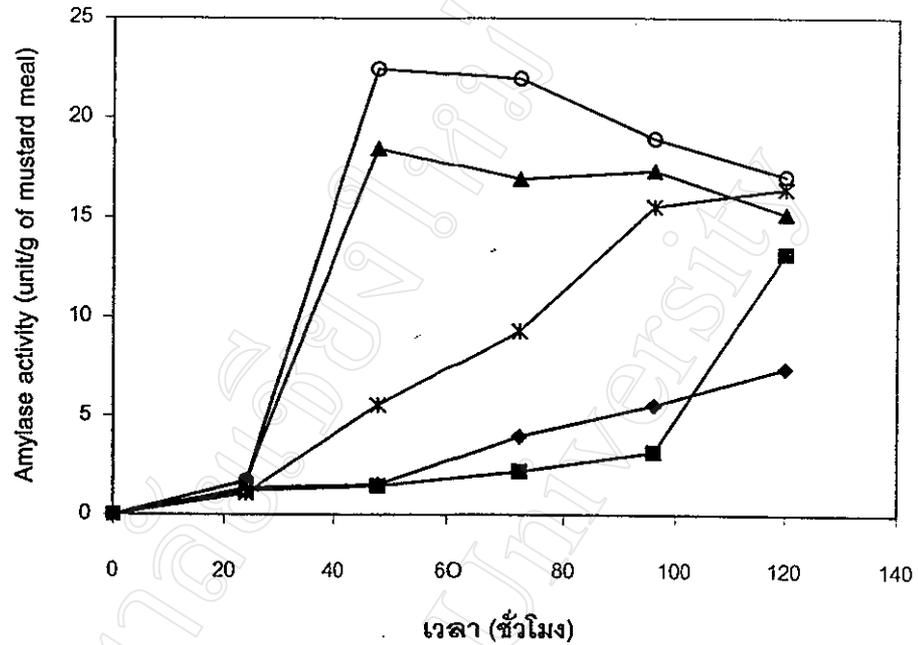
จากกราฟในรูป 3.72 แสดงปริมาณโปรตีนในสารละลายเอนไซม์ glutaminase และ protease พบว่า ปริมาณโปรตีนในแต่ละอุณหภูมิจะมีปริมาณค่อนข้างคงที่ และลดลงในวัน ที่ห้าของการเพาะเลี้ยง ยกเว้นที่อุณหภูมิ 25 และ 30 องศาเซลเซียส ที่เพิ่มสูงขึ้นจนกระทั่งวันที่ห้า ของการเพาะเลี้ยง



รูป 3.73 แสดง specific activity ของเอนไซม์ glutaminase โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ที่อุณหภูมิต่างๆ

- ◆ 10 องศาเซลเซียส
- 20 องศาเซลเซียส
- ▲ 25 องศาเซลเซียส
- 30 องศาเซลเซียส
- × 40 องศาเซลเซียส

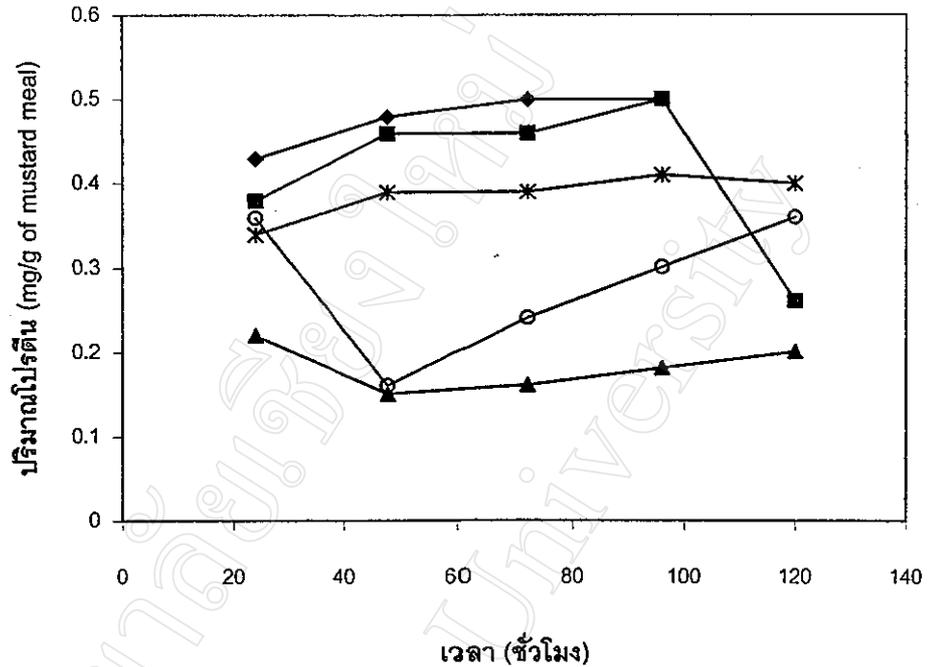
จากกราฟในรูป 3.73 แสดงความสามารถของเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ในการผลิตเอนไซม์ glutaminase ที่อุณหภูมิต่างๆพบว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์ glutaminase ได้สูงสุดในปริมาณ 67.1 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน ในเวลาการเพาะเลี้ยง 2 วัน รองลงมาคือที่อุณหภูมิ 25, 20, 40 และ 10 องศาเซลเซียส ในปริมาณ 59.4, 32.5, 17.8 และ 15.3 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน ตามลำดับ



รูป 3.74 แสดงแอกติวิตีของเอนไซม์ amylase โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ที่อุณหภูมิต่างๆ

- ◆ 10 องศาเซลเซียส
- 20 องศาเซลเซียส
- ▲ 25 องศาเซลเซียส
- 30 องศาเซลเซียส
- * 40 องศาเซลเซียส

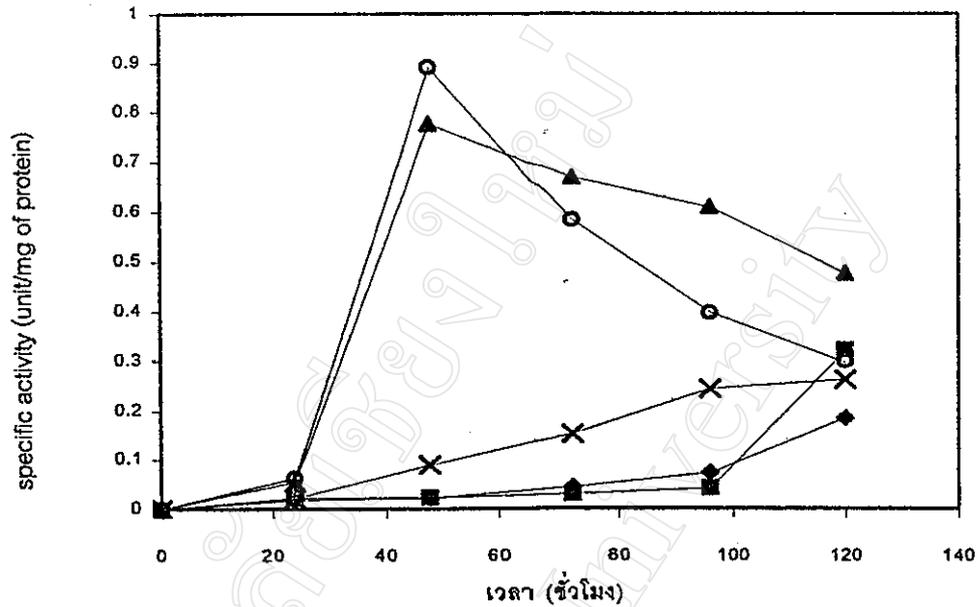
จากกราฟในรูป 3.74 แสดงความสามารถของเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ในการผลิตเอนไซม์ amylase ที่อุณหภูมิต่างๆ พบว่าที่ 30 องศาเซลเซียส เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์ amylase ได้สูงสุด 22.47 หน่วยต่อกรัมของกากมันส์ตาร์ด ในเวลาการเพาะเลี้ยง 2 วัน รองลงมาคือที่อุณหภูมิ 25, 40, 20 และ 10 องศาเซลเซียส ในปริมาณ 18.46, 16.49, 13.13 และ 7.38 หน่วยต่อกรัมของกากมันส์ตาร์ด ตามลำดับ



รูป 3.75 แสดงปริมาณโปรตีนในสารละลายเอนไซม์ amylase โดยเชื้อ *Aspergillus spp.* 4 ที่อุณหภูมิต่างๆ

- ◆ 10 องศาเซลเซียส
- 20 องศาเซลเซียส
- ▲ 25 องศาเซลเซียส
- 30 องศาเซลเซียส
- × 40 องศาเซลเซียส

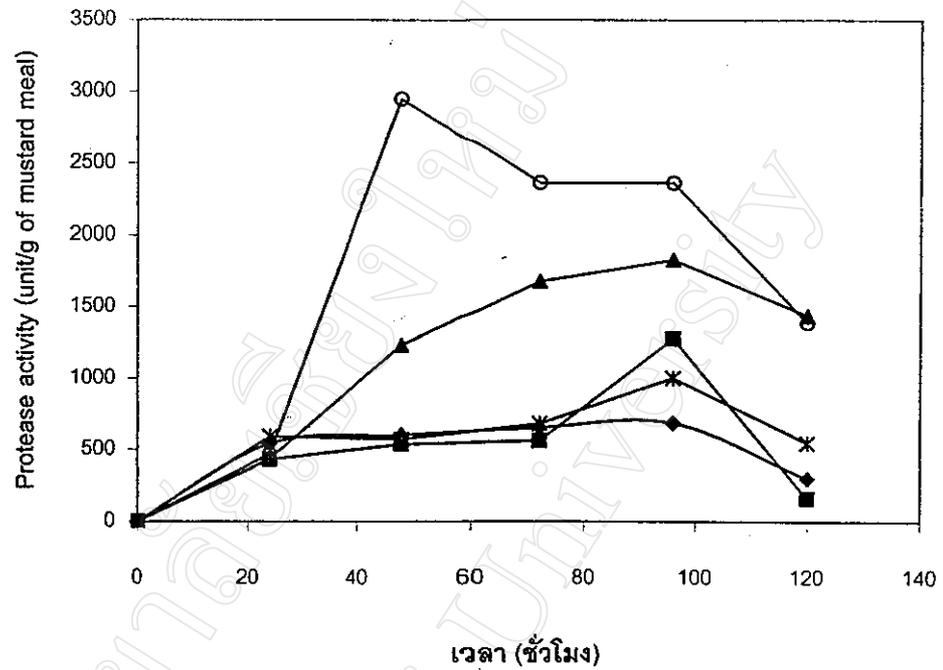
จากกราฟในรูป 3.75 แสดงปริมาณโปรตีนในสารละลายเอนไซม์ amylase พบว่า ปริมาณโปรตีนในแต่ละอุณหภูมิจะมีปริมาณค่อนข้างคงที่ และลดลงในวันที่ห้าของการเพาะเลี้ยง ยกเว้นที่อุณหภูมิ 25 และ 30 องศาเซลเซียส ที่เพิ่มสูงขึ้นจนกระทั่งวันที่ห้าของการเพาะเลี้ยง



รูป 3.76 แสดง specific activity ของเอนไซม์ amylase โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ที่ อุณหภูมิต่างๆ

- ◆ 10 องศาเซลเซียส
- 20 องศาเซลเซียส
- ▲ 25 องศาเซลเซียส
- 30 องศาเซลเซียส
- × 40 องศาเซลเซียส

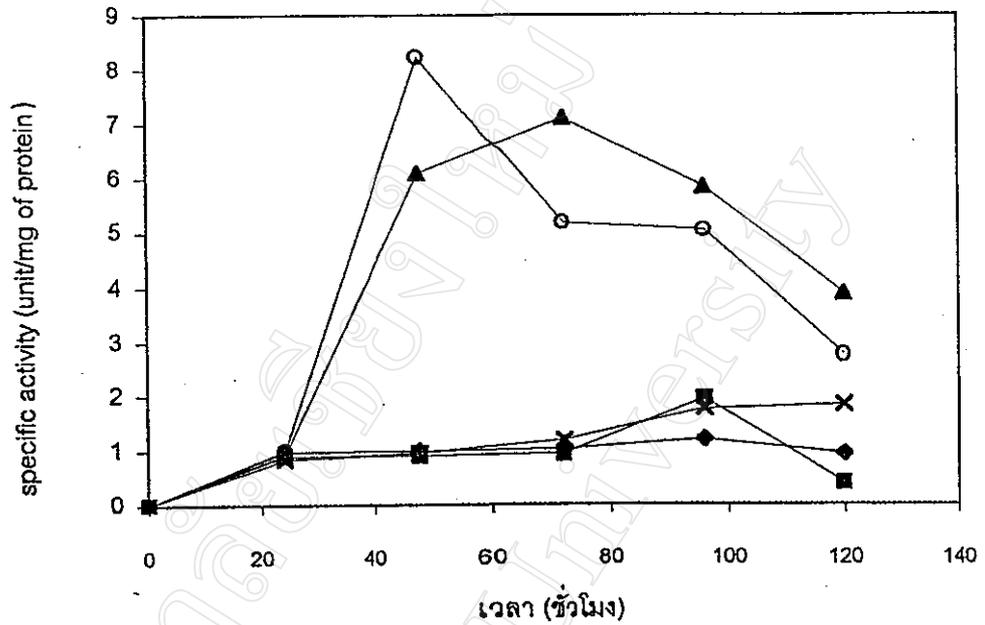
จากกราฟในรูป 3.76 แสดงความสามารถของเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ในการผลิตเอนไซม์ amylase ที่อุณหภูมิต่างๆ พบว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์ amylase ได้สูงสุด 0.891 หน่วยต่อมิลลิกรัมโปรตีน ในเวลาการเพาะเลี้ยง 2 วัน รองลงมาคือที่อุณหภูมิ 25, 20, 40 และ 10 องศาเซลเซียส ในปริมาณ 0.779, 0.321, 0.262 และ 0.183 หน่วยต่อมิลลิกรัมโปรตีน ตามลำดับ



รูป 3.77 แสดงแอกติวิตีของเอนไซม์ protease โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ที่อุณหภูมิต่างๆ

- ◆ 10 องศาเซลเซียส
- 20 องศาเซลเซียส
- ▲ 25 องศาเซลเซียส
- 30 องศาเซลเซียส
- × 40 องศาเซลเซียส

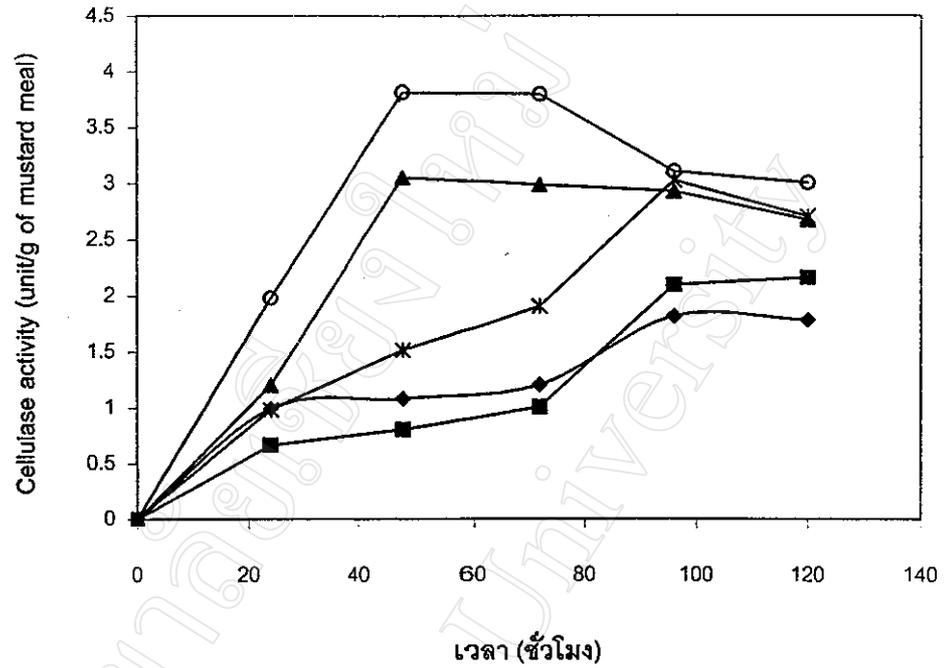
จากกราฟในรูป 3.77 แสดงความสามารถของเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ในการผลิตเอนไซม์ protease ที่อุณหภูมิต่างๆพบว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์ protease ได้สูงสุด 2950 ยูนิตต่อกรัมของกากมันฝรั่ง ในเวลาการเพาะเลี้ยง 3 วัน รองลงมาคือที่อุณหภูมิ 25, 20, 40 และ 10 องศาเซลเซียส ในปริมาณ 1826, 1274, 999 และ 686 ยูนิตต่อกรัมของกากมันฝรั่ง ตามลำดับ



รูป 3.78 แสดง specific activity ของเอนไซม์ protease โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ที่อุณหภูมิต่างๆ

- ◆ 10 องศาเซลเซียส
- 20 องศาเซลเซียส
- ▲ 25 องศาเซลเซียส
- 30 องศาเซลเซียส
- × 40 องศาเซลเซียส

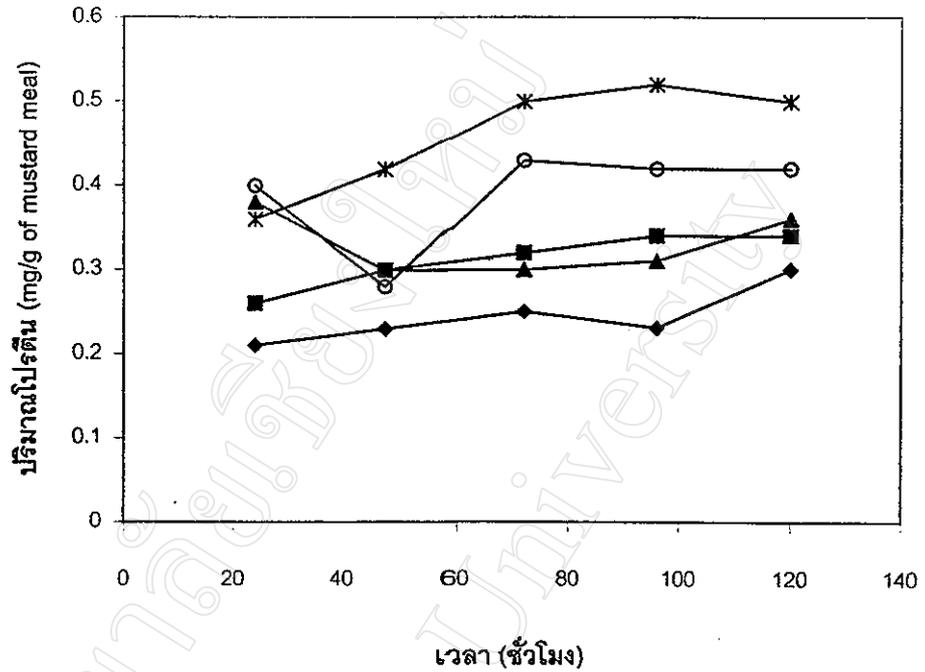
จากกราฟในรูป 3.78 แสดงความสามารถของเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ในการผลิตเอนไซม์ protease ที่อุณหภูมิต่างๆพบว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์ protease ได้สูงสุด 8.24 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน ในเวลาการเพาะเลี้ยง 3 วัน รองลงมาคือที่อุณหภูมิ 25, 20, 40 และ 10 องศาเซลเซียส ในปริมาณ 7.12, 1.93, 1.82 และ 1.18 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน ตามลำดับ



รูป 3.79 แสดงแอกติวิตีของเอนไซม์ cellulase โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ที่อุณหภูมิต่างๆ

- ◆ 10 องศาเซลเซียส
- 20 องศาเซลเซียส
- ▲ 25 องศาเซลเซียส
- 30 องศาเซลเซียส
- * 40 องศาเซลเซียส

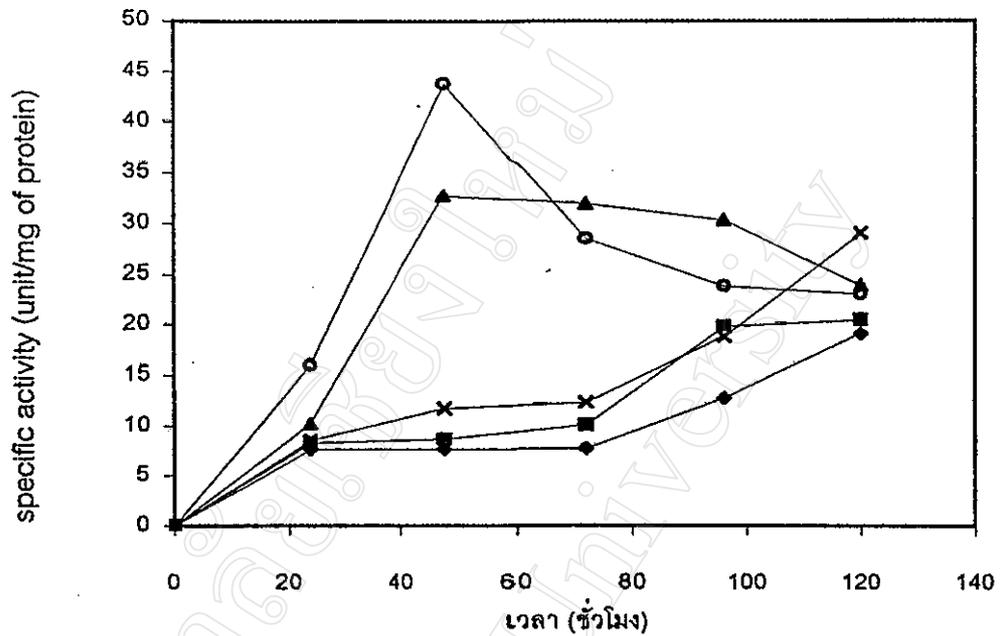
จากกราฟในรูป 3.79 แสดงความสามารถของเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ในการผลิตเอนไซม์ cellulase ที่อุณหภูมิต่างๆพบว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์ cellulase ได้สูงสุด 3.82 ยูนิตต่อกรัมของกากมันส์ตาร์ด ในเวลาการเพาะเลี้ยง 2 วัน รองลงมาคือที่อุณหภูมิ 25, 40, 20 และ 10 องศาเซลเซียส ในปริมาณ 3.06, 3.03, 2.16 และ 1.81 ยูนิตต่อกรัมของกากมันส์ตาร์ด ตามลำดับ



รูป 3.80 แสดงปริมาณโปรตีนในสารละลายเอนไซม์ cellulase โดยเชื้อ *Aspergillus spp.4* ที่อุณหภูมิต่างๆ

- ◆ 10 องศาเซลเซียส
- 20 องศาเซลเซียส
- ▲ 25 องศาเซลเซียส
- 30 องศาเซลเซียส
- × 40 องศาเซลเซียส

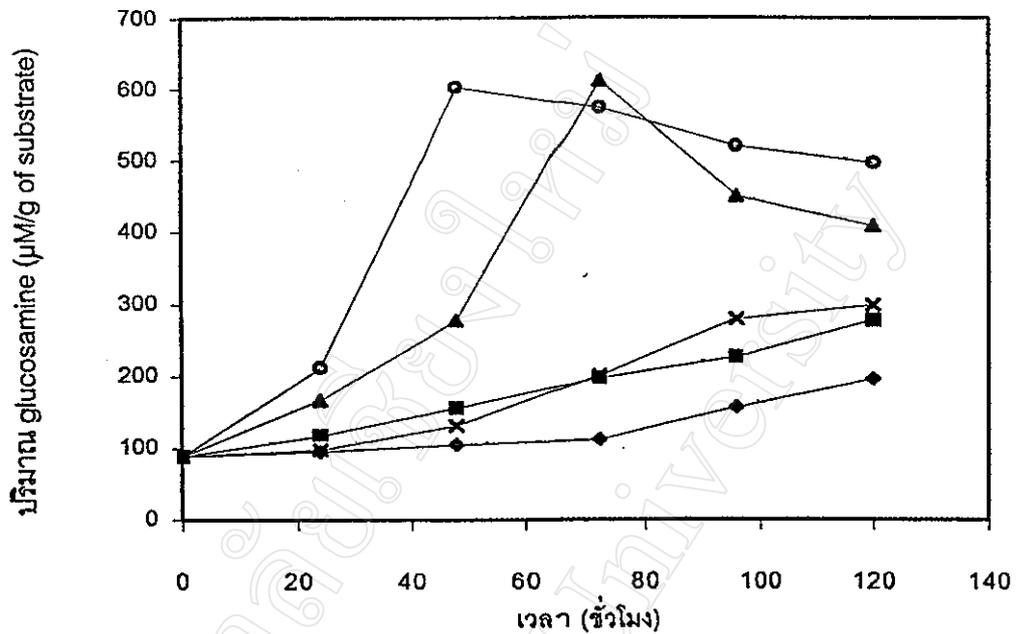
จากกราฟในรูป 3.80 แสดงปริมาณโปรตีนในสารละลายเอนไซม์ cellulase พบว่า ปริมาณโปรตีนในแต่ละอุณหภูมิจะมีปริมาณค่อนข้างคงที่ และเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในแต่ละวันของการเพาะเลี้ยง



รูป 3.81 แสดง specific activity ของเอนไซม์ cellulase โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ที่อุณหภูมิต่างๆ

- ◆ 10 องศาเซลเซียส
- 20 องศาเซลเซียส
- ▲ 25 องศาเซลเซียส
- 30 องศาเซลเซียส
- × 40 องศาเซลเซียส

จากกราฟในรูป 3.81 แสดงความสามารถของเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ในการผลิตเอนไซม์ cellulase ที่อุณหภูมิต่างๆพบว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์ cellulase ได้สูงสุด 43.8 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน ในเวลาการเพาะเลี้ยง 2 วัน รองลงมาคือที่อุณหภูมิ 25, 40, 20 และ 10 องศาเซลเซียส ในปริมาณ 32.8, 29.0, 20.4 และ 19.0 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน ตามลำดับ



รูป 3.82 แสดงปริมาณ glucosamine โดยเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ที่อุณหภูมิต่างๆ

- ◆ 10 องศาเซลเซียส
- 20 องศาเซลเซียส
- ▲ 25 องศาเซลเซียส
- 30 องศาเซลเซียส
- × 40 องศาเซลเซียส

จากกราฟในรูป 3.82 แสดงความสามารถของเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ในการเจริญบนกากมันฝรั่งที่อุณหภูมิต่างๆพบว่า ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส สามารถวัดปริมาณกลูโคซามีน ได้สูงสุด 612 ไมโครโมลต่อกรัมของอาหารในวันที่ 3 ของการเพาะเลี้ยง รองลงมาคือที่อุณหภูมิ 30, 40, 20 และ 10 องศาเซลเซียส ในปริมาณ 602, 299, 278 และ 196 ไมโครโมลต่อกรัมของอาหาร ตามลำดับ

ตาราง 3.7 แสดงแอกติวิตีของเอนไซม์ที่ผลิตโดยเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ที่อุณหภูมิต่างๆ

วันที่	อุณหภูมิ (°C)	กลูตามิเนส (unit/g of mustard meal)	อะไมเลส (unit/g of mustard meal)	โปรติเอส (unit/g of mustard meal)	เซลลูเลส (unit/g of mustard meal)
10	1	0	1.36	543	0.99
	2	1.93	1.51	603	1.08
	3	5.62	3.94	655	1.20
	4	5.62	5.52	686	1.81
	5	7.66	7.38	302	1.77
20	1	0.83	1.20	433	0.66
	2	1.23	1.45	538	0.80
	3	1.71	2.18	562	1.00
	4	5.04	3.16	1274	2.09
	5	12.39	13.13	162	2.16
25	1	2.41	1.74	438	1.20
	2	4.32	18.46	1230	3.06
	3	12.48	16.92	1673	2.99
	4	10.34	17.33	1826	2.93
	5	6.50	15.15	1436	2.68
30	1	3.18	1.71	471	1.98
	2	21.48	22.47	2950	3.82
	3	20.47	21.97	2365	3.80
	4	14.45	18.94	2363	3.11
	5	14.00	17.04	1384	3.01

ตาราง 3.7 (ต่อ)

อุณหภูมิ (°C) วันที่	กลูตามิเนส (unit/g of mustard meal)	อะไมเลส (unit/g of mustard meal)	โปรติเอส (unit/g of mustard meal)	เซลลูเลส (unit/g of mustard meal)
40				
1	4.66	1.07	592	0.98
2	4.21	5.54	574	1.51
3	5.41	9.23	681	1.90
4	4.95	15.53	999	3.03
5	4.81	16.41	550	2.71

จากการศึกษาการเจริญและการผลิตเอนไซม์ของเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ในการเลี้ยงบนกากมันฝรั่งในสภาพอาหารแข็ง ที่อุณหภูมิต่างๆ พบว่า ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เชื้อสามารถเจริญและผลิตเอนไซม์กลูตามิเนส อะไมเลส โปรติเอส และเซลลูเลส ได้ในปริมาณสูงสุด ดังนั้นจึงเลือกใช้อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตเอนไซม์ของเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ต่อไป